REPUPLIQUE ALGRIENNE DEMOCRATIQUE ET POUAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE YAHIA FARES DE MEDEA

FACULTÉ DES SCIENCES



MÉMOIRE

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En chimie

Spécialité : Chimie Macromoléculaire

Par :

Deghiche Said & Aid Soumia

Thème :

Élaboration d'un émulsifiant naturel à base de biopolymère d'origine marine

Dr. Euldji A.	MCB	Présidente
Dr. Ouazib F.	MCB	Examinateur
Dr. Arbia W.	MCB	Promotrice

Année universitaire 2020/2021



Remerciements

Nous remercions en premier lieu, le bon dieu qui nous a donné le courage et la patience pour parvenir à terme ce travail.

Nous adressons nos vifs remerciements et gratitude à notre encadreur Dr.A.WASSILA , de nous avoir encadrés etorientés tout au long de ce travail. Les critiques et les précieux conseils quenous avons eu durant le travail et pendant la rédaction.

Nous remercions sincèrement nos parents, qui nous ont toujours accueillis aide et soutien.

Que toutes les personnes qui, d'une façon ou d'une autre, m'ont aidépar leurs conseils, leur soutien et leur présence tout au long de ce travailen soient ici vivement remerciées **.**





Dédicace

Je tiens à dédier ce modeste travail plus particulièrement à

Mes parents

Ma chère mère et mon adorable

Frère YOUCEF

A mes frères et soeurs

A toute ma famille

A Mon camarade SEDDIK;

Et à tout (es) mes amies.

Said



JE DÉDIE CE MODESTE TRAVAIL À :

Madame ***ARBIA WASSILA***

MES TRÈS CHERS PARENTS

À vous que je ne peux pourrait assez exprimer mon éternel amour, Respect et gratitude. Pour votre amour, vos sacrifices, patience et tendresse.

QUE DIEU VOUS GARDE POUR NOUS.

Mes chères sœurs : Moni, Saliha

Mon très cher mari

Mohammed Amine *pour son soutien moral, ses encouragements et son aide précieuse.*

Ma belle famille

Surtout à ***Aïcha*** *et* ***Shorook***

Mes amies

Salima, soumia, aicha, ratiba, chai maa, nesrine, Naïma, Meryem, sabrai, Amina, romi, khawther

SANS OUBLIER MON

Binôme ***Saïd déhanché****, Salma, Sadik, Hicham, Walid*

TOUTE L'ÉQUIPE

De Chimie macromoléculaire et chimie pharmaceutique

Aïd / soumia

Liste des Tableaux

Tableau I.1. Sources potentielles de chitine	5
Tableau II. 1. Applications industrielles de la chitine et du chitosane dans les domaines biomédical et pharmaceutique	17
Tableau II. 2. Différentes applications du chitosane	22
Tableau III. 1. Exemples d'applications des films et enrobages comestibles	30
Tableau IV. 1. Matériels et produits utilisés	35
Tableau IV. 2. La composition de l'émulsion	40
Tableau IV. 3. La matrice expérimentale	40
Tableau IV. 4. Composition des biofilms préparés par la méthode solvant-casting	43
Tableau V. 1. Rendement massique obtenu après extraction de la chitine et du chitosane.	45
Tableau V.2. Les bandes d'absorptions caractéristiques de la chitine extraite.	47
Tableau V. 3. Les bandes d'absorptions caractéristiques du chitosane produit.	48
Tableau V.4. Les résultats de tests solubilité de tous les biofilms et chitosanepoudre.	54
Tableau V. 5. Résultats du test de stabilité des émulsions par centrifugation	55

Liste de Figures

Fig. I. 1. La structure chimique de la chitine	4
Fig. I. 2. Structure chimique de la chitine désacétylée : le chitosane	4
Fig. I. 3. Procédé de fabrication de chitine	7
Fig. I. 4. Les unités de répétitions structurales de la chitine et de chitosane	9
Fig.II.1. Application du chitosane dans le domaine biomédical comme peau artificiel.	16
Fig. II. 2. Utilisation du chitosane comme floculant	19
Fig. II. 3. Différentes formes de chitosane produites	22
Fig. III. 1. Fonctions sélectives des films et enrobages comestibles	27
Fig. III. 2. Représentation schématique de la préservation d'un aliment	29
Fig. III. 3. Représentation schématique des étapes de fabrication de films par voie sèche	33
Fig. IV.1. Les étapes de préparation de la poudre de carapace de crevette	36
Fig. IV. 2. Aspect de la chitine récupérée (Photo originale)	37
Fig. IV. 3. Schéma récapitulatif de préparation de la chitine et du chitosane	38
Fig. IV. 4. Test de solubilité de chitosane	39
Fig. IV. 5. Diagramme de fabrication d'une crème en utilisant le chitosane comme émulsifiant	41
Photo V. 1. Poudre de chitosane (photo originale)	45
Fig. V. 1. Spectre IR de la chitine	48
Photo V. 2 Les biofilms préparés	49
Fig. V. 2. Spectre IR de la chitosane	57
Fig. V.3. Spectre IR du chitosane 1% et 2% respectivement.	50
Fig. V. 4 .Spectre IR de la chitosane 1% + 1 ml l'huile d'olive	51
Figure V.5. Spectre IR de la chitosane 1% + 1 ml de glycérol	53
Photo V. 3. Test de solubilité des membranes : chitosane 1% huile d'olive (soluble) et chitosane	54
Photo V. 4. L'émulsion N°2 avant d'ajustement du pH	55
Photo V. 5. Test de stabilité des émulsions par centrifugation	56

الكلمات المفتاحية

استخلاص الكيتين

نزع المعادن

نزع البروتين

نزع الأستيل استخلاص

اغشية البلاستيك

les mots clés

extraction de chitine

déminéralisation

déprotéinisant

Désacétylation des films plastiques

key words

chitin extraction

demineralization

deproteinizing

Deacetylation of plastic films

Liste des abréviations

Termes	Désignation ou Définition	Unités
ŋ	Viscosité intrinsèque	dl /g
A	Absorbance du rayonnement électromagnétique	
a	constant de Mark-Houwink	
ADN	Acide désoxyribonucléique	
Ca(OH)2	Hydroxyde de calcium	
CaSO3	Calcium sulfite	
DA	degré d'acétylation	
DD	Degré de désacétylation	
DL50	la dose létale à 50%	g/kg
H2O2	peroxyde d'hydrogène	
IR	infra rouge	
Ka	Constante d'acidité	
K2CO3	Carbonate de potassium	
KOH	Hydroxyde de potassium	
L	litre Unité de volume	L
Mv	la masse moleculaire viscosimétrique	g/mol
CS	Chitosane	
G	Glycérol	
HO	hydroxyde	

Erythrocytes : un globule rouge, qui (chez l'homme) est généralement un disque biconcave sans noyau. Les érythrocytes contiennent le pigment hémoglobine, qui donne la couleur rouge au sang et transporte l'oxygène et le dioxyde de carbone vers et depuis les tissus.

L'*héparine* est un médicament anticoagulant, c'est une molécule qui fait partie des ... la mesure de l'activité anti Xa

L'agglutination est l'agrégation, c'est-à-dire la réunion en amas, de particules support d'un antigène sous l'action d'anticorps spécifiques.

Une *thrombose* veineuse est typiquement riche en fibrine et pauvre en plaquettes ... d'auto-anticorps *anti*-phospholipide,

Un fibroblaste est une cellule peu différenciée, précurseur du tissu conjonctif

kératinocytes sont des cellules constituant 85 % de la couche superficielle de la peau (épiderme) et des phanères (ongles, cheveux, poils, plumes, écailles).

hondrocytes sont de grosses cellules rondes, qui peuvent atteindre 20 à 40 micromètres de diamètre

l'ostéoblaste est de synthétiser et de minéraliser la matrice osseuse au cours de la croissance du squelette

cytotoxicité est la propriété d'un agent chimique ou biologique à être toxique pour les cellules, éventuellement jusqu'à les détruire.

ملخص :
الهدف من هذا العمل هو استخراج مادة الكيتوزان من مادة الكيتين المنتج من قشور الجبري استخراجنا الكيتين كيميائيا في البداية و يتم ذلك على خطوتين.الخطوة الاولى في ازالة المعادن التي تتم بمحلول حمض الهيدروكلوريد Hcl عند (1.5M). عند الخطوة الثانية في ازالة البروتينات بمحلول قاعدي من محلول هدروكسيد الصوديوم NaOH (1.25M). وبعد ذلك قمنا بإعداد الكيتوزان وهذه الخطوة تسمى نزع الاسيتيل بحيث اخذنا الكيتين المتحصل عليه الى معالجة قلوية بمحلول مركز من هدروكسيد الصوديوم. بعد ذلك قمنا بصناعة اغشية الكيتوزان بتركيز 1% و 2% و اغشية أخرى مزيج بين (الكيتوزان 1% + 1مل زيت الزيتون)، (الكيتوزان 1% + 1مل غليسيرين) و (كيتوزان 1% + 1مل زيت الزيتون+ 1مل غليسرين) لدراسة التحولات التي تحدث على هذه الاغشية. أظهرت النتائج المتحصل عليها أن الأغشية المتكونة من خليط الكيتوزان ـ زيت الزيتون و الكيتوزان ـ غليسيرين تذوب في الماء بينما الاغشية الأخرى لا تمتلك هذه الخاصية. كما اظهرت النتائج ان كل الاغشية لا تمتص الماء. في هذا العمل حاولنا كذلك دراسة قدرة الكيتوزان على الإستحلاب باستعمال طريقة التخطيط التجريبي. بينت النتائج المتحصل عليها أن الكيتوزان يمتلك هذه الميزة لكنه بحاجة إلى مستحلب مساعد من أجل الإستحلاب المستقر.
الكلمات المفتاحية: الكيتين، الكيتوزان، المستحلب، المخطط التجريبي، إستقرار المستحلب

Résumé
Le but de ce travail est d'extraire le chitosane de la chitine produite à partir des carapaces de crevette. Nous avons extrait la chitine chimiquement en deux étapes. La première étape est d'éliminer les minéraux avec une solution de HCl à (1.5M). À la deuxième étape, l'élimination des protéines avec une solution d'hydroxyde de sodium (1.25M). Ensuite, nous avons préparé le chitosane par une réaction de désacétylation en traitant la chitine obtenue par une solution concentrée de NaOH. Différents films de chitosane ont été préparés : films de chitosane seul à une concentration de 1% et 2%, et des films composés de (chitosan 1% + 1 ml d'huile d'olive), (chitosan 1% + 1 ml de glycérine) et (chitosan 1% + 1 ml d'huile d'olive + 1 ml de glycérine) pour étudier les transformations qui se produisent sur ces membranes. Les résultats obtenus ont montré que les films formés à partir d'un mélange de chitosan-huile d'olive et de chitosan-glycérine se dissolvent dans l'eau, alors que les autres films n'ont pas cette propriété. Les résultats ont également montré que toutes les membranes n'absorbent pas l'eau. Dans ce travail, nous avons également essayé d'étudier la capacité émulsifiante en utilisant la méthode de plan d'expérience. Les résultats obtenus ont montré que le chitosane possède cette propriété mais qu'il a besoin d'un co-émulsifiant pour obtenir une émulsion stable.
Mots clés : chitine, chitosan, émulsifiant, schéma expérimental, stabilité de l'émulsion.

Abstract
The aim of this work is to extract chitosan from chitin produced from shrimp shells. We extracted the chitin chemically in two steps. The first step is to remove the minerals with a solution of HCl (1.5M). In the second step, proteins are removed with sodium hydroxide solution (1.25M). Next, we prepared the chitosan by a deacetylation reaction by treating the obtained chitin with a concentrated solution of NaOH. Different chitosan films were prepared: films of chitosan alone at a concentration of 1% and 2%, and films composed of (1% chitosan + 1 ml of olive oil), (1% chitosan + 1 ml of glycerin) and (1% chitosan + 1 ml of olive oil + 1 ml of glycerin) to study the transformations that occur on these membranes. The results obtained have shown that the films formed from a mixture of chitosan-olive oil and chitosan-glycerin dissolve in water, while the other films do not have this property. The results also showed that not all membranes absorb water. In this work, we also tried to study the emulsifying capacity using the experimental design method. The results obtained have shown that chitosan has this property but that it needs a co-emulsifier to obtain a stable emulsion.
Key words: chitin, chitosan, emulsifier, experimental design, stability of the emulsion

Introduction Générale

Il existe une très grande diversité de bio-polymères issus des produits marins, parmi lesquels on trouve la famille des polysaccharides tels que l'alginate de sodium et le chitosane. Ces bio-polymères constituent une alternative intéressante dans le cadre du remplacement des polymères issus de la pétrochimie, car ils possèdent des propriétés physicochimiques et biologiques importantes. Ces propriétés trouvent des applications ciblées dans des domaines très variés notamment dans les secteurs de l'agriculture, pharmaceutique et biomédicale. Ce polymère est aujourd'hui principalement extrait de la carapace des crevettes ou des crabes, ainsi que des plumes de calamar. Cependant, compte tenu des nombreuses applications de pointe qui nécessitent cette molécule, il est important d'en chercher de nouvelles sources, qui pourront donner de chitine et de chitosane de qualité supérieure avec des caractéristiques physico-chimiques meilleurs tels que le degré de désacétylation (Mémoire belkadi rabia et fergani madiha, 2017).

Suite au procédé de désacétylation, le chitosane devient riche en groupements amine hautement réactifs, ceci fait du degré de désacétylation un paramètre important vu qu'il affecte les propriétés physico-chimiques. Le pourcentage de désacétylation correspond à la quantité relative de groupements acétyles retirés à la molécule de chitine lors de la préparation du chitosane. Le degré d'acétylation du chitosane a une très grande influence sur ses propriétés et ses possibilités industrielles (Mémoire belkadi rabia et fergani madiha, 2017).

Les paramètres comme la concentration en NaOH, la température et le temps influent sur le degré de désacétylation. L'examen de ces variables une à la fois prend du temps et les résultats donnent un grand nombre d'expériences à réaliser ainsi qu'un grand nombre de données à analyser. Ceci ne permet pas de rassurer les interactions entre ces variables. En conséquence, la méthodologie des plans d'expériences, qui est une approche statistique et d'analyse, a été utilisée dans cette étude pour surmonter les limites d'une variable à la fois et pour décrire adéquatement l'effet de plusieurs facteurs de limitation ainsi que leurs teractions. La méthode de Taguchi est utilisée afin de permettre à facteurs d'intérêt d'être étudiés simultanément dans une seule course expérimentale. Pour cela, la méthode Taguchi est utilisée d'établir le modèle mathématique qui décrira les données expérimentales et qui définira les conditions optimales de degré désacétylation. Le pourcentage d'acétylation est déterminé par méthode telle que la spectrométrie infrarouge FTIR.

Ce mémoire comporte quatre chapitres :

- Le premier chapitre présente la définition de la chitine et le chitosane. Il comporte une étude bibliographique sur la chitine et le chitosane en détaillant leurs structures chimiques, leurs propriétés physico-chimiques, leurs procédés d'extraction ;
- Le deuxième chapitre présente les applications de la chitine et le chitosane ;
- Le troisième chapitre aborde en détail les biofilms comestibles et leurs propriétés physico-chimiques.
- Le quatrième chapitre le matériel et les méthodes utilisés pour réaliser ce travail ;
- Le cinquième chapitre comporte la présentation des résultats obtenus ainsi que leur discussion.

Enfin, ce mémoire se termine par une conclusion générale où elle résumera les principaux résultats obtenus lors de cette étude.

Chapitre I

La chitine et le chitosane

I. 1. Historique

En 1811, le professeur Henri Braconnot, à isoler une substance fibreuse d'un certain type de champignon (Kedou, 2008). Il appela cette substance « fungine », en 1823 Odier a extrait 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 un produit 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 composant structural. En 1859, Rouget remarqua que la chitine modifiée, préparée à partir de la chitine traitée par de la potasse à chaud, était soluble dans des solutions aqueuses et les acides dilués. Cette propriété alors été utilisée pour distinguer cette nouvelle substance de la chitine. Le nom chitosane a été introduit pour la première fois en 1894 par Hoppe–Seylermais la découverte du chitosane 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 pour s'amplifier à partir des années 70. Le chitosane a commencé à susciter un réel intérêt en raison notamment des grandes quantités de déchets disponibles que produisaient les conserveries de crustacés (Djelad, 2011).

Les gouvernements, notamment Américain et Japonais, ont alors cherché à valoriser ces déchets 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 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 avons 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 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 de l'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. Définition et structure de la chitine

La chitine est un polysaccharide linéaire formé d'unités de N-acétyle-D-glucosamine reliés entre eux par une liaison du type β-(1-4) (Fig. I. 1).

Elle est la composante majeure de la paroi cellulaire de beaucoup de champignons ainsi que dans des carapaces des crustacés tels que : homards, crevette et crabes (Kassaï, 2008).

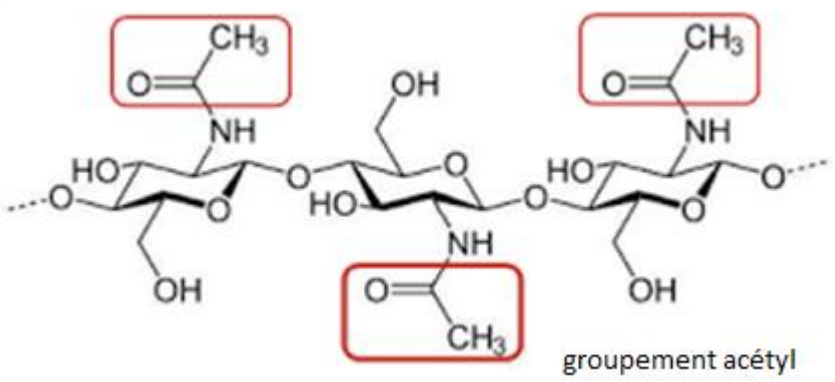


Fig. I. 1. La structure chimique de la chitine (Kassaï, 2008).

I. 3. Définition et structure de chitosane

Le chitosane est un enchaînement de monomères β-D-glucosamine reliés par une liaison glycosidique β (1→4) (Fig. I. 2). Il est obtenu par désacétylation partielle ou totale de la chitine et peut être décrit comme étant un copolymère composé d'unités D-glucosamine et N-acétylglucosamine (Senge, 1988).

Le chitosane est une substance peu répondue dans la nature. Il est présent uniquement dans les parois, cellulaires de certains micro-organismes fongiques (champignons zygomycètes) et dans le mycélium. Il n'est 'signalé que dans les exosquelettes de certains insectes (par exemple la paroi abdominale des reines de termites).

Le chitosane, est soluble dans les acides faibles, il possède une charge positive alors que la plupart des polysaccharides sont chargés négativement (Rinaudo, 2006).

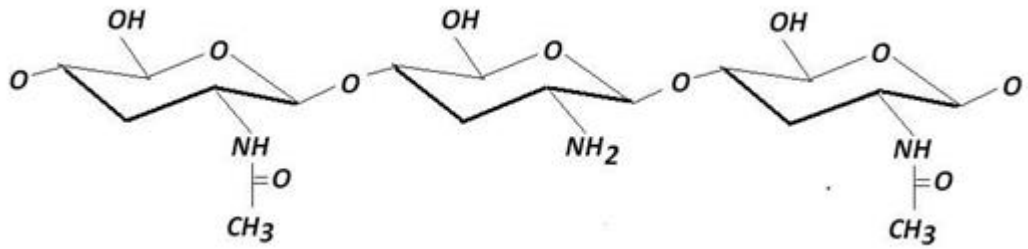


Fig. I. 2. Structure chimique de la chitine désacétylée : le chitosane (Rinaudo, 2006).

I. 4. Les sources de la chitine

La chitine est le polysaccharide naturel, facile à obtenir et renouvelable. Dans le règne animal, la chitine est un élément structurel important du tégument de certains invertébrés. Elle est présente principalement dans les coquilles de mollusques, dans les cuticules des insectes et dans la carapace des crustacés (Crini et al., 2009).

Dans le règne végétal, la chitine se trouve dans la paroi de la plupart des champignons et de certaines algues chlorophycées. En plus de son rôle dans le maintien de la rigidité de la cellule, elle contribue au contrôle de la pression osmotique. La chitine est présente, aussi, dans certaines levures et bactéries.

Bien que les sources potentielles de chitine soient très nombreuses (Tableau I.1), elle est, industriellement, produite à partir des carapaces de crevette (Shahidi et Abuzaytoun, 2005).

Tableau I.1 : Sources potentielles de chitine (Crini et al., 2009)

Sources	Sites de présence	Teneur en chitine (en %)
Arthropodes : • **Crustacés (crevette)** • **Insectes** • **Arachides**	**Exosquelettes, cuticules membranes**	**2-72**
Mollusque • **Seiche** • **Pieuvres/calamars**	**Coquilles, plumes, stomacales, dents, plaques**	**6 - 40**
Polyplacophores	**Tube floral**	**33**
Cnidaires	**Capsules d'oeufs, membrane**	**3 - 30**
Annélides • **Sangsue** • **Lombric**	**Soies**	**0.2-38**
Brachiopodes	**Cuticules, coquilles**	**4-29**
Champignons	**Paroi cellulaire, tige, spore**	**/**

Algues	**Paroi cellulaire**	**Faible**

I. 5. Procédé d'extraction de la chitine

La faible teneur de la chitine dans les organismes tels que les insectes et les champignons, laisse à suggérer que les crustacés sont les principales sources fournissant cette matière première (chitine) (Blakwell, 1973).

De nombreuses méthodes ont été développées afin de préparer la chitine à partir des carapaces de ces crustacés. Parmi ces méthodes, les méthodes chimiques sont les plus utilisées.

L'extraction chimique consiste en déminéralisation acide et une déprotéinisation basique. Elles consistent à éliminer les protéines (déprotéinisation), les éléments minéraux (déminéralisation) et la couleur (décoloration et blanchiment) (Kim, 2011) (Figure I. 3).

I. 5. 1. Déminéralisation

Elle 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, à des concentrations variables de 1 à 10 mol/L. La durée du traitement acide est de l'ordre de 1 à 48 heures à la température ambiante (No et al., 1989).

I. 5. 2. Déprotéinisation

A l'état naturel, la chitine se présente en association avec les protéines (chitino-protéines). Ces protéines sont éliminées par un traitement basique en utilisant des solutions à base de NaOH, Na_2CO_3, $NaHCO_3$, KOH, K_2CO_3, $Ca(OH)_2$ ou NaH_2PO_4, à des concentrations variables de 0.1 à 5 mol/L. La solution d'hydroxyde de sodium (10% massique) est la plus souvent utilisée pour solubiliser les protéines. La durée du traitement basique est de l'ordre de 0.5 à 72 heures à des températures allant de 65 à 100°C.

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 les carapaces 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 (NaClO), peroxyde d'hydrogène H2O2. Durant le processus de blanchiment, le réactif utilisé ne doit pas avoir un effet sur les propriétés physico-chimique de la chitine (Touatia, 2016).

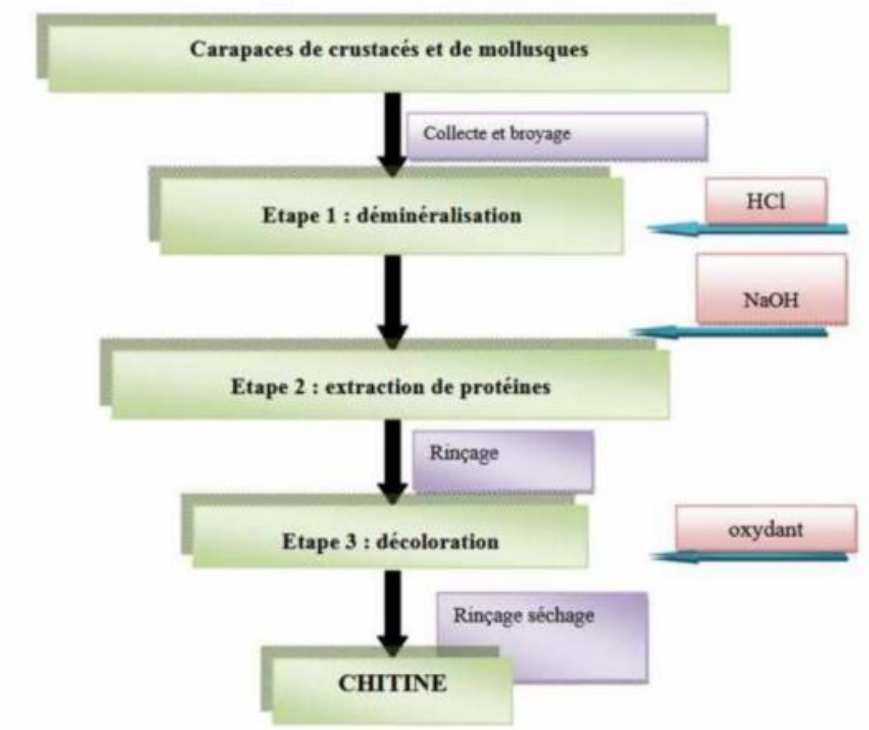


Fig. I. 3. Procédé de fabrication de chitine d'après (Onsoyen et Skaugrud 1990)

I. 6. La préparation du chitosane

I. 6. 1. Désacetylation de la chitine

Ces trois étapes de traitement des carapaces (fig. I. 3), 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 désacétylation des groupements amines a atteint plus de 70%, on peut dire qu'on a obtenu du 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 distingue le chitosane de la chitine. En conséquence, nous appellerons chitosane tout échantillon ayant un degré d'acétylation résiduel (DA) < 30% (Seng, 1988).

I. 6. 1. 1. Désacetylation chimique

La désacétylation 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. 1. 2. Désacetylation enzymatique

La production de chitosane par voie enzymatique (les désacétylases de chitine) peut fournir une alternative au traitement thermochimique (Caufrier et al., 2003 ; Tokuyasu et al., 2000; Zhao et al., 2010; Tang et al., 2011). Cependant, l'inconvénient de cette technique et le coût élevé des enzymes qui influence le prix de revient du chitosane préparé.

I. 7. Propriétés de la chitine et du chitosane

I. 7. 1. Propriétés physico-chimiques de la chitine et du chitosane

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 déterminer le DA :

Sur des échantillons solides : la spectroscopie IR permet d'obtenir les empreintes spectrales vibrationnelles des groupements caractéristiques de la molécule. L'analyse se fait sur des échantillons de chitosane en poudres mais les résultats sont toutefois plus précis sous forme de films (Djelad, 2011). Il existe d'autres techniques plus avancées et plus onéreuses pour caractériser 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 sont employées à savoir : dosage UV (Maghami et al., 1988), titrage colloïdal (Chen et al., 1997), RMN liquide du proton (1H), de l'azote (15 N), du Carbon (13 C) (Saito et al.,1987 ; Vårum et al., 1991 ; Raymond et al., 1993 ; Heux et al., 2000, Yang et al., 2000, ,). Le degré d'acétylation présente le taux de groupe acétylé par rapport au groupe non acétylé (fig. I.4).

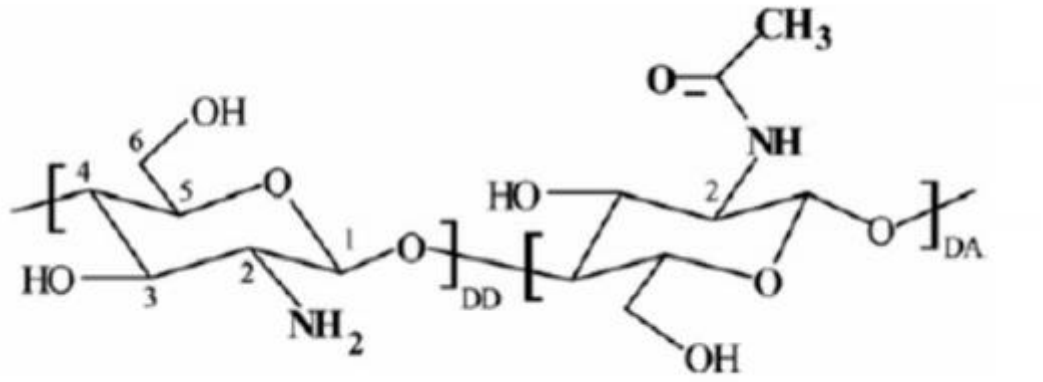


Fig. I. 4. Les unités de répétitions structurales de la chitine et de chitosane

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) et le degré de désatylation (DD) sont déterminés en utilisant les formules suivantes (keddou, 2008) :

DA% = (A1655/A3450) *100/1.33…….... (1)

DD% = %NH2 = [1-(A1655/A3450) *1/1.33] *100…… ……(2)

- *A1650 cm^{-1} est l'absorbance à la longueur d'onde 1655 cm^{-1} (Amide I 1655 cm^{-1})*
- *A3450 cm^{-1} est l'absorbance à la longueur d'onde 3450 cm^{-1} (Hydroxyle 3450 cm^{-1})*
- *Le facteur 1.33 représente le rapport (A1655/A3450) pour un chitosane entièrement N'acétylé.*

I. 7. 1. 2. Viscosité

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

$[\eta] = K. M^a$ …… (3)

[η] est la viscosité intrinsèque

Mv la masse moléculaire viscosimétrique

Selon les solvants, K et a ont différentes valeurs et on se réfère en général à la loi de Roberts 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 certains problèmes. En effet, la présence possible de microgels ou d'agrégats favorisés par les liaisons hydrogène, le vieillissement des solutions et des effets électrostatiques (dus aux charges des groupes amine- amine protonés) peuvent induire des erreurs. La viscosité du chitosane dépend de :

- Degré d'acétylation : est l'un des propriétés les plus importantes du chitosane;
- 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% désacétylé, 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).

$$-NH_3^+ + H_2O \leftrightarrows -NH_2 + H_3O^+$$

$$Ka = [-NH_2] \cdot [H_3O]/[NH_3^+]$$

Comme pour tout poly électrolyte, le pKa du chitosane dépend plus particulièrement du degré de neutralisation des groupes $NH3^+$. 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 $NH3^+$. 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, pK_0 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 (Domard, 1987 ; Aiba, 1991; 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 total d'unités sur la chaîne du polymère, il ne permet pas de connaître le nombre de groupes aminés réellement accessibles et disponibles. En effet, l'établissement des liaisons inter et intra-chaînes et la cristallinité intrinsèque du polymère limite respectivement la disponibilité et 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 la capacité du polymère à gonfler (swelling). Cette cristallinité peut être évaluée par des techniques de diffraction aux rayons X (Ogawa et Yui, 1993). L'aire sous la courbe dans les zones cristallines rapportées à l'aire totale sous la courbe du diffractogramme permet d'établir un indice de cristallinité. Cette mesure difficile à normaliser reste un instrument qualitatif pour comparer différents matériaux. Cette cristallinité influence également les propriétés diffusionnelles (Piron et al., 1997).

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

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

I. 7. 1. 5. Réactivité

La présence de nombreux groupes hydroxyle confère au polymère un caractère hydrophile intéressant qui sera très utile pour des propriétés d'adsorption dans des solutions aqueuses et pour quelques réactions catalytiques (Onsoyen et al., 1990 ; Guibal et al., 1994). Cependant, le groupe réactif le plus important pour la conception de catalyseurs supportés est le groupe amine porté par le chitosane. Ces groupes amine sont très réactifs pour la fixation des métaux et leur action peut passer par différents mécanismes.

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

différents 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 chimistes pendant un certain nombre d'années. Dans le cas de la chitine, la connaissance de tel paramètre 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 bio résorption 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 D-glucosamine, métabolisés ensuite dans l'organisme. Un chitosane de DD50 % 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, masse molaire…). Une étude plus approfondie a montré d'abord une augmentation de la susceptibilité 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 influence du 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 des applications 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, des chondrocytes et des ostéoblastes a été démontrée in vitro. Des travaux montrent que, quel que soit le DA (2- 50%), la mise au contact prolongée de films de chitosane avec les deux premiers types 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 plusieurs propriétés telles que la biocompatibilité, la biodégradation (Kumar2000), le pouvoir chélatant qui permet l'élimination des métaux lourds (Shepherd, 1997) et du cholestérol ou d'autres graisses (Abdelghani, 2008) …etc. La nature β (1→4) des liaisons glycosidiques confère à la chitine et au chitosane des propriétés filmogènes. En outre, ces films présentent une perméabilité importante. Compte tenu de sa structure chimique, le chitosane présente l'avantage, contrairement à la majorité des polysaccharides, de posséder un caractère polycationique dû aux groupements amine qui en solution et en milieu acide sont chargés. De

ce fait, les molécules chargées négativement peuvent interagir avec la chaîne macromoléculaire du chitosane. C'est le cas des acides gras, des impuretés présentes dans l'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 par différents aspects : la difficulté d'extraction et de purification de la chitine et son insolubilité, la transformation nécessaire de la chitine en chitosane suivie de la dérivation de cette dernière pour la plupart des applications (Mourya, 2008 ; Abdelghani, 2008).

II. 1. Introduction

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 (Amroun, 2011).

II. 1. Domaine pharmaceutique et médical

La biocompatibilité du chitosane se traduit par son antigénicité, sa non toxicité et son hémocompatibilité. Son non toxicité est illustré par une dose limite administrable par voie orale de 17g/kg. Jour. L'hémocompatibilité se manifeste par un caractère antithrombogènetout en étant un hémostatique local.

Il trouve de ce fait des applications en revêtement d'objets devant être mis en contact avec le sang comme les prothèses vasculaires ou les valves cardiaques. Sa bio activité est due principalement à son activité biostimulant qui lui donne aussi la propriété d'accélérer la cicatrisation (Ribeiro et al., 2009). La chitine et le chitosane entraînent une réduction de la synthèse de collagène indésirable, une Augmentation du nombre d'histiocytes, une stimulation des fibroblastes qui produisent alors une quantité abondante 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 peau artificielle. Cette peau aux propriétés analgésiques permet une cicatrisation des brûlures et une reconstitution de l'épiderme beaucoup plus rapide et de façon moins douloureuse qu'avec les produits utilisés habituellement. Cette peau ne présente aucun risque de rejet.

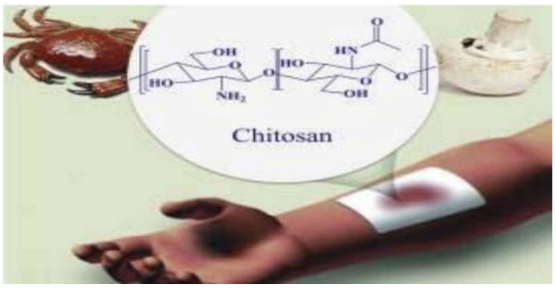


Fig. II. 1. Application du chitosane dans le domaine biomédical comme peau artificiel.

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

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

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

De nombreux travaux ont permis d'étudier et de développer l'utilisation du chitosane comme 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 cellules impliquées dans la défense immunitaire vis-à-vis des cellules tumorales et des agents pathogènes. Il peut aussi exercer une action hypocholestérolémiante chez les rats, qui semble due à la capacité de ce polymère à piéger les lipides. Cette propriété est largement utilisée pour la promotion des produits amaigrissants à base de chitosane (Abdelghani, 2018). Enfin, le chitosane s'est également montré actif contre la cryptosporidiose chez les chèvres 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 - Chirurgie reconstructrice - Chirurgie plastique - Cancérologie ingénierie tissulaire - Biologie cellulaire	- Accélération de la cicatrisation et de la guérison des blessures. - Traitement des lésions épidermiques. - Stimulation de la régénération des tissus (prolifération des cellules). - Matrice pour la régénération osseuse (substitut osseux, substitut de cartilage) ou pour la reconstruction de la peau (peau synthétique). - Stimulation du système immunitaire. - Vaisseaux sanguins artificiels. - Pansements, fils de sutures chirurgicaux biorésorbables. - Agent anticoagulant, hémostatique, bactériostatique, spermicide, anti-infectieux, antibactérien, antifongique, anti tumeur. - Encapsulation de cellules, de facteur de croissance. - Adsorption des plaquettes (protéines). - Thérapie angiogénique. - Transfection (introduction d'ADN exogène dans des cellules). - Rétention d'eau ou d'ions, membrane de dialyse (ingénierie biomédicale).
- Pharmacie - Dermatologie	- Matériel absorbable avec possibilité de contrôle de libération de principes actifs (relargage de médicaments). - Systèmes d'administration de médicaments par voie orale, systémique ou locale (via les muqueuses, voie nasale, oculaire, vétérinaire transdermique ou intra-tumorale)
- Ophtalmologie	- Adjuvant de vaccination, Excipients. - Formation de gels et microcapsules avec des polymères anioniques. - Encapsulation/immobilisation d'enzymes. Crèmes de soins, produits dermatologiques (traitement de l'acné). - Lentilles de contacts
-Alicaments -Neutraceutique	- Complément alimentaire (produits amaigrissants) - Faculté d'augmenter la satiété diminution du taux de cholestérol fixateur de graisses lutte contre l'excédent pondéral (obésité)
-Dentisterie et chirurgie dentaire	- 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 bactéries chitinolytiques telles que *Bacillus cereus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Par conséquent, elle induit la production des chitinases (Wang et al., 1995 ; Chang et al., 2006)

qui peuvent être 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 et d'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 des matières minérales et organiques, mais aussi des microorganismes, en font un matériau de choix pour le traitement des eaux usées. Il peut être utilisé aussi bien à l'état solide qu'en solution afin de complexer les ions métalliques.

Cette application étant basée sur le caractère cationique du polymère, son efficacité varie selon la concentration en polymère et le pH du milieu.

Différentes techniques sont généralement appliquées aux traitements des eaux, telles que l'adsorption, la floculation ou les traitements biologiques. Le chitosane peut être utilisé des fins d'adsorption (Crini, 2005 ; Crini, 2006) et de floculation (Renault et al.,2009), le fait qu'il s'agisse d'un composé écologique, 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 effluents biologiques secondaires des cartonnages (Renault et al.,2009). Malheureusement, les applications réelles dans l'industrie restent plutôt rares, car les agents floculant concurrents sont moins chers. En effet, même si le chitosane présente de meilleures propriétés, les produits traditionnels 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 matière plastique pour la production de films antimicrobiens destinés à l'industrie alimentaire, c'est-à-dire l'emballage protégeant des légumes frais, des fruits ou de la viande (Nadarajah etal.,2006).

Plusieurs tentatives de production de nouveaux matériaux biofonctionnels ont également été réalisées, tel que le greffage de dérivés esters de polyéthylène glycol (PEG) (Lebouc et al., 2005) ou de phosphométhylation (Montserrat et al., 2000 ; Lebouc et 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 intérêt particulier. En effet, cette application combine plusieurs techniques de pointe, telles que la lyophilisation ou l'utilisation de CO_2 supercritique ($scCO_2$) (Abdelghani, 2008) pour

augmenter les capacités d'échange de surface et/ou l'utilisation de liquides ioniques. Il contribue ainsi à la mise en œuvre des principes de chimie verte en minimisant la quantité de produitnécessaire-proportionscatalytiques et non stœchiométriques, et utilisation de matières premières 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 de l'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'immobilisation des enzymes et 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 ses dérivés sontaussiutilisés dans la préparation des vernis à ongles. Le chitosane dépolymérisé et la carboxyméthyle chitine ont été utilisés comme éléments actifs dans des produits 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 phytopathogènes Certains agents pathogènes des plantes) (Bouarab,2000).

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

1) l'induction de plusieurs mécanismes biologiques, similaires à ceux observés lors de l'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 plantes possèdent des enzymes chitinolytiques, qui les aident à se défendre contre les agresseurs de pathogènes, tels que les champignons. L'introduction chitosane dans le 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 et légumes, 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 est bénéfique 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 pour conserver 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 matériau d'encapsulation (Takeuchi et al., 1996). En milieu acide les groupes amine du chitosane sont protonés et leurs charges positives peuvent interagir avec des polyanions tels que l'alginate ou carraghénane pour former des complexes poly électrolytes très utilisés en encapsulation de divers composants bioactifs (Peter, 1995).

Ce polyoside est considéré comme fibre alimentaire, car il n'est pas complètement dégradé au niveau du tube digestif humain. C'est un composant diététique crucial, il inhibe la métabolisation des graisses grâce aux interactions entre ses fonctions amines et les groupe ment carboxyliques des lipides il réduit de 20 à 30% le taux de cholestérol absorbé par le 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 et imprégnés dans les tissus pour fabriquer des vêtements dits « intelligents ». Les principes actifs se diffusent progressivement sur la peau à mesure que le vêtement est porté (No et Meyers., 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.

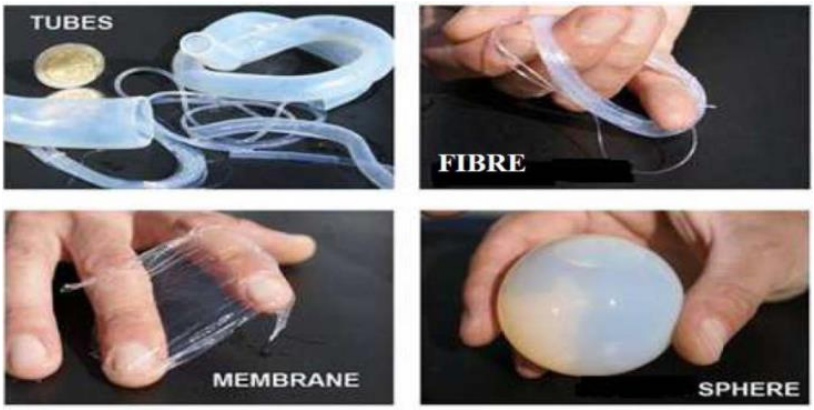


Fig. II. 3. Différentes formes de chitosane produites (Ararem, 2010)

II. 10. Autres applications

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 hydro dynamicité et diminue ainsi leur consommation du carburant. Ces peintures sont aussi utilisées au niveau des hôpitaux comme peintures antibactériennes
Bio textiles	La chitine est utilisée dans la fabrication des textiles bactériostatiques
Chimie	Il est utilisé en tant que super absorbant, phase stationnaire pour la chromatographie, capteur ou encore support pour la catalyse.
Emballage	La chitine est utilisée dans la production de papier de carton sanitaire. Les papiers ont une surface plus lisse et résistent mieux à l'humidité
L'industrie papetière	Le chitosane peut être appliqué dans l'industrie papetière. Les chimistes ont remarqué que la molécule de chitosane ressemble étonnamment à la cellulose. Il suffit de remplacer les groupements amines (NH2) du chitosane par des

	groupements hydroxyles (OH) pour obtenir la cellulose. Des industriels américains comptent bien utiliser les dérivés du chitosane pour la fabrication de pâte à papier. Le chitosane confère une résistance à l'état humide au papier.

III. 1. Introduction

Les bioplastiques sont des biopolymères issus de ressources renouvelables appelées bio-sources. La production de plastiques est passée de 1,5 millions de tonnes en 1950 à 311 millions de tonnes en 2014. Les bioplastiques ne représentent que 0.5 % de cette production en 2014 avec un objectif de 2% pour 2016.

Face au développement des bioplastiques, il est très important de s'interroger dès à présent sur l'impact environnemental de ces biopolymères.

En effet, les plastiques biosourcés sont fabriqués à partir de matières renouvelables, qui peuvent provenir directement des produits de la terre, de la mer ou de micro-organismes. Le remplacement d'une ressource fossile par une matière renouvelable est à priori positif pour l'environnement. Cependant la production à grande échelle des plastiques biosourcés peut avoir de lourdes conséquences sur notre environnement, telles que la déforestation, l'épuisement des sols et réserves hydrauliques, l'utilisation abusive de pesticides, la production au détriment de la nourriture (Belkadi et Fergani, 2017).

III. 2. Emballages Comestibles

Les films et les enrobages comestibles sont utilisés traditionnellement pour améliorer l'apparence et la conservation des produits alimentaires. Les exemples les plus courants sont :

* Le pelliculage des fruits avec des cires naturelles pratiqué en Chine depuis le XIIème siècle ;

* Les enrobages de chocolat sur les produits de confiserie ou de pâtisserie ;

* L'enrobage de viande avec des matières grasses ;

* L'emballage d'aliments divers dans un film lipoprotéique obtenu à partir du lait de soja (Debeaufort et al., 1998) pour améliorer leur aspect ou leur présentation et prolonger leur durée de conservation.

Un emballage comestible est un film, un enrobage ou une couche mince protectrice qui possède des propriétés sélectives (vis-à-vis des transferts) ou bien actives. Il fait partie intégrante de l'aliment et est consommé tel quel (Guilbert et Gontard, 1992). Ces emballages se présentent principalement sous deux aspects :

1. Structures indépendantes de l'aliment : films, sachets, enveloppes (peau de saucisson), barquettes (destinées à contenir des fruits ou de la viande),

2. Produits directement appliqués à l'aliment : enrobage tel que le sucre autour de l'amande dans la dragée, le chocolat autour du biscuit dans la « barre chocolatée » ou la cire de paraffine autour de certains fruits.

III. 3. Définition du film comestible

Un film comestible peut se définir comme étant une fine couche de matériaux comestibles (protéines, polysaccharides et lipides) formée à la surface d'un aliment sous forme d'enrobage ou placée sur ou entre les différents composants d'un aliment (Krochta et De MuIder-Johnston, 1997).

Les films comestibles font partie intégrante du produit enrobé et sont consommés en même temps que le produit et par conséquent, doivent avoir des propriétés sensorielles neutres (compatible avec le produit), pour ne pas être détectés lors de la consommation (Cuq et al., 1995; Guilbert et al., 1997). Ils protègent le produit de l'environnement ou des autres composants de l'aliment (dans le cas de produit non filmogène). Ils augmentent ainsi sa durée de vie en agissant comme une barrière aux gaz, à l'humidité et aux matières grasses. Les films comestibles forment un sous-groupe des films biodégradables (biofilms) qui se définissent comme étant une fine couche de matériaux complètement dégradable par les microorganismes en composés naturels**.**

Ils jouent un rôle important sur la stabilité des produits alimentaires. Ils permettent en effet d'augmenter la qualité des produits emballés en diminuant les pertes d'arômes, en préservant le goût, la texture et en améliorant l'apparence. Ils induisent aussi une augmentation de leur durée de vie et de leur conservation et favorisent le maintien de la qualité des aliments même après ouverture. Les films comestibles peuvent en effet protéger les produits de l'humidité et peuvent former des barrières aux gaz et aux solutés dans le cas de produits hétérogènes (Peyron, 1991).

Les composés les plus souvent utilisés pour la formation des films ou d'enrobages comestibles dans le domaine de la conservation des aliments se divisent en trois (03) catégories : les hydrocolloïdes, les lipides, et les composés (composites).

- Les hydrocolloïdes sont représentés par les protéines (kératine, caséine, zein de maïs, gluten de blé, protéine de lactosérum et de collagène) et par les polysaccharides (dérivé cellulosique, dérivé d'amidon, alginate, pectine, carragénine, gommes arabiques et chitosane) ;
- Les lipides sont principalement constitués par les cires, acides gras ;
- Les composés (composites) sont un mélange d'hydrocolloïdes et de lipides. Les films composites peuvent exister sous forme d'une ou double couche et/ou sous forme d'émulsion. Baldwin et al. (1955), ont montré que les enrobages à base de polysaccharide sont très efficaces pour la conservation des fruits et légumes frais. Ce sont des polymères très disponibles, peu coûteux, non toxiques et biodégradables (Arai et al., 1968, Whistler, 1991). Ils possèdent de très bonnes propriétés filmogènes et sont principalement utilisés comme

agent stabilisant, épaississant et gélifiant (Gliskman, 1982). De plus, ces films sont clairs, résistants, flexibles. Ils ont une perméabilité sélective à l'oxygène et au dioxyde de carbone, ce qui favorise un meilleur contrôle de l'atmosphère interne du **hit** durant le stockage et la distribution (Sandford, 1989 ; Peyron, 1991 ; Kaplan et al., 1993). La perméabilité sélective de ces polysaccharides au dioxyde de carbone et l'oxygène résulte en un ralentissement de la respiration des fruits et légumes. Ceci a pour effet d'augmenté la durée de vie sans toutefois engendrer de conditions anaérobies qui entraînent un désordre physiologique et une baisse rapide de la qualité. L'idée dans tous les cas est de créer une atmosphère modifiée dans le produit avec un emballage totalement biodégradable.

III. 4. Qualités requises et fonctions des films et enrobages comestibles

Plusieurs qualités sont requises pour l'utilisation des emballages comestibles. De part leur qualification, ces emballages sont comestibles et peuvent être ingérés. De ce fait, ils ne doivent présenter aucune toxicité, ils nécessitent :

- de présenter une stabilité biochimique, microbiologique et physico-chimique supérieures à celle du produit destiné à être protégé.
- De plus, ils doivent avoir des propriétés sensorielles favorables ou neutres vis-à-vis de l'aliment concerné.
- Une résistance mécanique et une efficacité barrière élevée sont également recherchées.
- Enfin, étant constitué de polymères naturels (protéines, polysaccharides, lipides), d'ingrédients et d'additifs alimentaires, ils ne sont donc pas ou très peu polluants et sont facilement dégradés.

Par ailleurs, des technologies d'application ou de fabrication simples à mettre en œuvre ainsi que des matières primaires de faible coût sont souhaitables (Debeaufort, 1994). Enfin, d'autres propriétés fonctionnelles sont également demandées (barrière au transfert de matières, thermosoudables, pliables, imprimables, etc.).

Les fonctions des emballages comestibles sont variées et présentées sur la figure III. 1. Ils peuvent être utilisés pour leurs propriétés barrières, c'est à dire leur sélectivité ou capacité à ralentir les transferts et migrations de diverses substances (eau, gaz, lipides, arômes, pigments, etc.), entre l'aliment et son environnement ou entre divers constituants d'un aliment hétérogène dans le but de prolonger la durée de conservation des produits alimentaires.

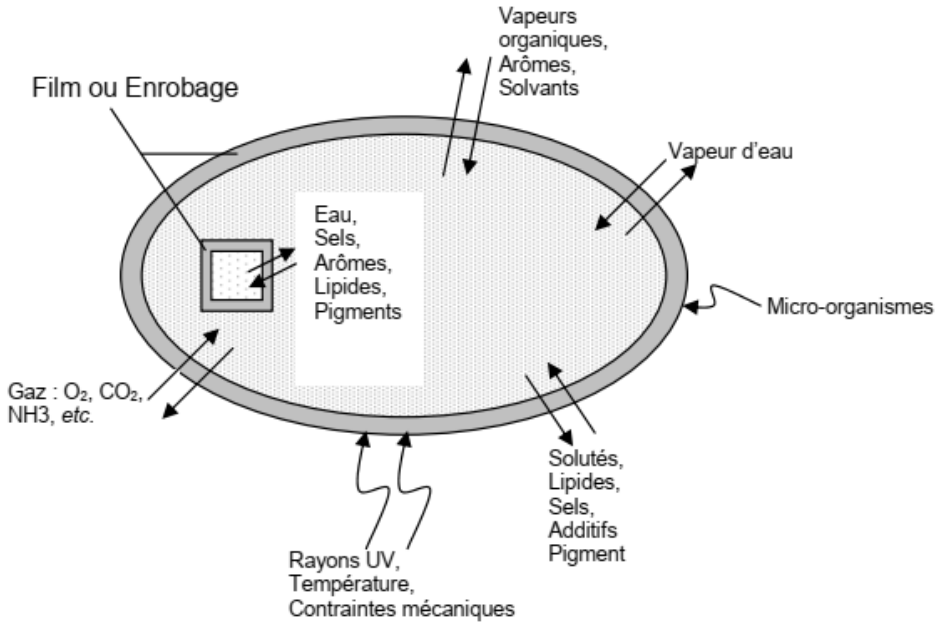


Fig. III. 1. Fonctions sélectives des films et enrobages comestibles (d'après Debeaufort et al., 1998).

Ces emballages peuvent également présenter un rôle actif dans le sens où ils peuvent améliorer les qualités organoleptiques, biochimiques, hygiéniques, microbiologiques et/ou physico-chimiques des aliments ainsi emballés. Ce rôle consiste à servir de support pour des substances actives (médicaments, vitamines, antioxydants, antimicrobiens, etc.), des agents de surface (colorants, agents brillants, etc.), des arômes, ou encore à renforcer la structure de produits fragiles (Debeaufort, 1994).

III. 5. Application des films et enrobages comestibles

De nombreuses applications des films et enrobages comestibles mettent à profit leurs propriétés barrières spécifiques (Krochta, 1992). La figure III. 2, présente leurs différentes fonctions (Cuq et al., 1995**b**). Par exemple, des films ou des enrobages avec de « bonnes » propriétés barrières à la vapeur d'eau peuvent être utilisés pour limiter la dessiccation superficielle d'aliments humides ou congelés, pour limiter la reprise en eau d'aliments secs ou pour limiter les transferts d'eau entre deux compartiments à différentes activités en eau dans un aliment composite (Fig. III. 2a) (Kamper et Fennema, 1985 ; Kester et Fennema, 1989b ; Fennema et al., 1993 ; Baker et al., 1994). Les propriétés barrières aux gaz des films et enrobages comestibles peuvent être mises à profit pour protéger des aliments sensibles à l'oxydation ou pour ralentir la respiration de fruits et légumes frais (Fig. III. 2b) (Baldwin, 1994 ; Wong et al., 1994 ; Guilbert et al., 1996 ; Barron et al., 2000). Les propriétés barrières

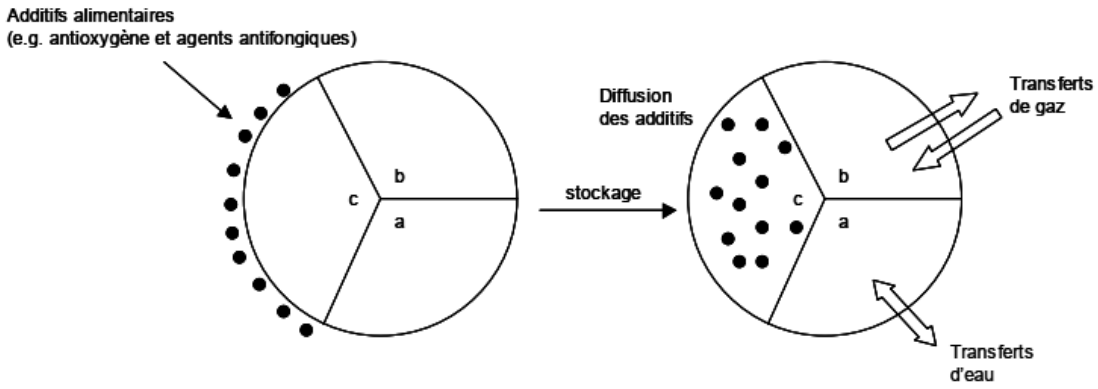
aux composés de nature apolaire des films et enrobages à base d'hydrocolloïdes (protéines et polysaccharides) peuvent être exploitées pour limiter les transferts d'arôme ou de matières grasses au cours des opérations de transformation ou pour limiter leur diffusion à l'intérieur d'un aliment ou entre l'aliment et son environnement (Torres et Karel, 1985 ; Guilbert, 1986 ; Cuppett, 1994 ; Debeaufort et al., 1995 ; Redl et al., 1996).

La solubilité dans l'eau ou dans les matières grasses des films et enrobages comestibles est un caractère important. Pour certaines applications, il peut être intéressant de disposer de films solubles dans l'eau ou dans l'huile pour la préparation de l'aliment. Des sachets et des capsules comestibles peuvent être utilisés pour le conditionnement de portions prédosées d'ingrédients ou d'additifs destinés à être dispersés dans des mélanges alimentaires (e.g. des agents émulsifiants pour la préparation de pâtes pâtissières ou boulangères) ou encore de préparations déshydratées à dissolution instantanée (e.g. des sachets individuels de boissons ou de potages). Des agents de flaveur, des composés antimicrobiens, des antioxydants ou des substances colorantes peuvent être incorporés dans des films appliqués à la surface des aliments afin d'obtenir un effet fonctionnel localisé (Fig. III. 2c). Certaines de ces applications des films et enrobages comestibles relèvent du concept de « couches superficielles actives » introduit par Cuq et al. (1995b).

Les films et enrobages comestibles peuvent être considérés comme un des « facteurs de conservation ». Les « couches superficielles actives » contribuent directement à la préservation des aliments, par exemple en contrôlant les échanges gazeux (vapeur d'eau, oxygène, dioxyde de carbone, éthylène, etc.) ou en modifiant et contrôlant les conditions à la surface des aliments (pH, rétention d'agents fonctionnels, libération contrôlée d'additifs, etc.).

Les films et enrobages comestibles peuvent être considérés également comme un paramètre complémentaire et parfois irremplaçable dans la maîtrise de la qualité et de la stabilité de nombreux aliments frais, transformés ou congelés. Bien que de nombreuses fonctions des films et enrobages comestibles soient identiques à celles des emballages synthétiques conventionnels, leur utilisation implique généralement la présence d'un sur-emballage non comestible, notamment pour des raisons d'hygiène. La présence de films et d'enrobages comestibles peut être mise à profit pour mettre en œuvre un sur-emballage avec des matériaux conventionnels moins performants et moins coûteux.

Sans film ou enrobage comestible :



Avec film ou enrobage comestible :

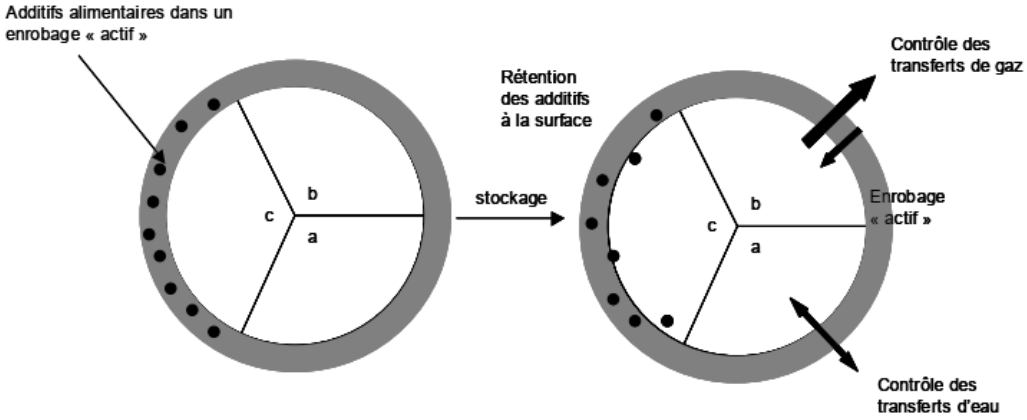


Fig. III. 2. Représentation schématique de la préservation d'un aliment

Avec ou sans enrobage comestible « actif », lorsque le premier mode de détérioration de l'aliment résulte de la déshydratation ou la reprise d'humidité (a), de la pénétration d'oxygène ou de la respiration (b), d'un développement microbien ou d'une oxydation à la surface (c) (d'après Cuq et al., 1995b).

Dans le tableau III. 1, sont présentées les propriétés fonctionnelles, les qualités requises et les applications potentielles des films et enrobages comestibles.

Tableau III. 1. Exemples d'applications des films et enrobages comestibles (d'après Guilbert et Cuq, 1996).

Propriétés fonctionnelles	Qualités requises	Applications
Fournir une protection contre l'humidité et/ou l'oxygène.	Bonne aptitude à l'enrobage. Faibles perméabilités à l'oxygène et/ou à l'eau.	Aliments frais (poisson, fromage, viande, fruits), à humidité intermédiaire, secs (noix, snacks, fruit secs) ou congelés.
Limiter la dessiccation superficielle.	Film humide (se déshydrate avant l'aliment).	Aliments frais ou congelés.
Retarder la détérioration microbienne de surface.	Incorporation d'un agent antimicrobien.	Aliments humides ou à humidité intermédiaire.
Maintenir les différences d'a*w*, contrôler les transferts (solutés pigments, arômes) dans un aliment hétérogène.	Bonnes propriétés barrières à l'eau, aux solutés et/ou aux matières grasses.	Aliments hétérogènes (pâtisseries, biscuits, pizzas, confiseries), mélanges de produits secs pour apéritif, petit déjeuner, potages, aliments surgelés hétérogènes.
Empêcher l'absorption de solutés ou d'huile par l'aliment.	Bonnes propriétés barrières aux solutés, aux huiles.	Aliments congelés saumurés (crevettes, crabes), déshydratés par osmose ou frits.
Améliorer les propriétés mécaniques et renforcer la structure de l'aliment.	Bonne adhésion et cohésion.	Cacahouètes, crevettes, produits texturés, pâtisseries, aliments secs, lyophilisés, aliments en croûte et décorés.
Protéger individuellement des petits morceaux d'aliments.	-Surface non collante. -Bonnes propriétés barrières et mécaniques.	Cubes de fromage, fruits secs et à humidité intermédiaire, cubes de glace.
Empêcher l'agglomération de petites pièces.	Surface sèche et non collante.	Cubes de fromages, fruits secs, produits frits, produits congelés.
Améliorer l'aspect de surface.	Lisse, brillant, homogène.	Produits de boulangerie, de confiserie, fruits frais et secs, snacks.
Modifier la couleur, l'arôme ou le goût de l'aliment.	-Support colorants, arômes. -Bonnes propriétés barrières.	Applications multiples.
« Piéger » les arômes durant la fabrication et l'entreposage	Bonnes propriétés barrières.	Fruits à humidité intermédiaire, aliments secs.
Portions pré dosées d'ingrédients destinés à être dispersés dans des produits alimentaires.	Aptitude à former une «capsule » soluble ou dispersible à chaud ou à froid.	-Additifs à finalité nutritionnelle, additifs alimentaires, concentrés de levure ou d'enzymes, arômes, épices, sauces. -Potages déshydratés, boissons instantanées, édulcorants, assaisonnements, préparations aromatiques.

III. 6. Composition des films et enrobages comestibles

La composition des films et enrobages comestibles est très variée. Par ailleurs, il n'existe pas de législation particulière sur la composition ou l'emploi des couches barrière. Ces dernières pouvant être consommées au même titre que l'aliment, il suffit qu'elles répondent aux réglementations en vigueur pour les produits alimentaires. Par conséquent, d'après la Direction Générale de la Consommation, de la Concurrence et de la Répression des Fraudes, tous les ingrédients, additifs et auxiliaires technologiques autorisés sont potentiellement utilisables dans la formulation des emballages comestibles (Debeaufort, 1994). Toutefois, le choix des constituants des films et enrobages dépend essentiellement des objectifs recherchés et des contraintes technologiques (procédé de fabrication) et sensorielles du produit. Un certain nombre d'autres substances est également utilisé soit comme additif dans la formulation de films et enrobages barrière pour optimiser leurs propriétés fonctionnelles, soit comme agent technologique pour faciliter la préparation des solutions, suspensions et émulsions filmogènes ou encore pour faciliter l'adhésion ou limiter l'écoulement de l'enrobage sur le produit support. On peut ainsi citer :

• les émulsifiants et agents texturants pour stabiliser les émulsions et les suspensions,
• les acides ou les bases utilisés pour faciliter la solubilisation des protéines,
• des agents pontants pour augmenter la réticulation des systèmes protéiques (sulfites, aldéhydes),
• des antioxydants (acide ascorbique) ou encore des antimicrobiens,
• des enzymes prouvent favoriser la création de liaisons intra-ou intercaténaires, telles que des transglutaminases, ou la solubilisation de biopolymères par une action d'hydrolyse,
• des sels, qui en modifiant la force ionique du milieu, permettent ou non la gélification ou la coacervation de macromolécules chargées comme par exemple les sels de calcium en présence d'alginates ou de pectinates (Gontard, 1991 ; Guilbert et Cuq, 1998).

III. 7. Techniques de fabrication et d'application des films et enrobages comestibles

Plusieurs procédés peuvent être mis en œuvre pour la fabrication des films et enrobages comestibles : l'extrusion pour les matériaux thermoplastiques, la fusion pour les lipides et l'étalement en couche mince « casting » pour les hydrocolloïdes (Guilbert et Cuq, 1998). Deux voies technologiques de fabrication de films et d'enrobages comestibles sont possibles : la première est appelée « voie humide » ou « voie solvant » et la deuxième est appelée «voie sèche».

III. 7. 1. La voie humide

Pour les films et enrobages comestibles à base d'hydrocolloïdes, les procédés de fabrication utilisés, souvent regroupés sous le terme de «voie humide», incluent :

• **La coacervation simple,** où un hydrocolloïde en dispersion aqueuse est précipité ou subit un changement de phase par : évaporation du solvant, par une modification du pH, par un changement de la température ou encore par modification de la force ionique.

• **La coacervation complexe,** où deux solutions d'hydrocolloïdes de charge opposée sont combinées en provoquant l'interaction et la précipitation du complexe de polymères (*e.g.* l'association de protéines avec des chitosanes).

• **La gélification ou la coagulation thermique,** pour lesquelles le chauffage de la macromolécule entraîne sa dénaturation suivie d'une gélification (*e.g.* l'ovalbumine) ou d'une précipitation, ou encore le refroidissement d'une dispersion chaude d'hydrocolloïde provoque une transition sol-gel (la gélatine).

Les systèmes du solvant utilisés pour la préparation des solutions ou des dispersions filmogènes sont généralement à base d'eau et/ou d'éthanol, voire exceptionnellement d'acétone. La dispersion des molécules dans un milieu solvant réclame parfois l'addition d'agents dissociants (mercaptoéthanol, sulfite de sodium, cystéine, borohydrure de sodium, N-éthylmaléimide). L'ajustement du pH se fait par addition d'acides (acides lactique, chlorhydrique, acétique), de bases (hydroxydes d'ammonium, de sodium, de potassium, ou triéthylamine) ou en contrôlant la force ionique par addition d'électrolytes.

Les propriétés fonctionnelles des films et enrobages formés par « voie solvant » sont dépendantes des conditions de fabrication : concentration en molécules, pH de la solution, choix des additifs, polarité du solvant, vitesse et température du séchage de la solution filmogène (Gontard et *al.*, 1992 ; Greener-Donhowe et Fennema, 1993a ; Gennadios et *al.*, 1993a).

La fabrication des films et enrobages par « voie solvant » implique l'étalement en couche mince de la solution filmogène ou dispersion filmogène sur un support, suivi d'une étape d'élimination du solvant et de décollement. C'est pourquoi, cette voie est également dénommée « casting » ou « coulée continue » (Kaster et Fennema, 1986 ; Greener Donhowe et Fennema, 1994 ; guilbet et Cuq, 1998). Cette technique est le principal procédé appliqué pour la fabrication des films et enrobages à base de polyosides et de protéines. Cette technologie, parfaitement maîtrisée à l'échelle du laboratoire, a été très largement utilisée pour étudier les propriétés filmogènes de nombreuses matières premières lipidiques, protéiques et polyosidiques. Cette technique est aussi utilisée pour des productions industrielles.

Lorsqu'un égouttage est nécessaire, il est pratiqué à chaud (pour diminuer la viscosité de l'enrobage) par passage sur un treillis vibrant, par centrifugation ou par ventilation forcée. La prise du produit de couverture ou du film s'obtient soit par séchage, soit par refroidissement. Les techniques d'enrobage requièrent généralement un niveau élevé de savoir-faire et d'expérience.

III. 7. 2. La voie sèche

Le caractère thermoplastique des matériaux filmogènes amorphes ou le caractère fusible des composés cristallins ou semi cristallins a été mis à profit pour la fabrication de films ou d'enrobages par « fusion thermoplastique ». La mise en forme de ces matériaux par des procédés thermiques ou thermomécaniques dans des conditions de faible hydratation est basée sur des transitions de structure des matériaux filmogènes : la fusion des lipides et des sucres, des zones cristallines des polysaccharides, la transition vitreuse des zones amorphes des protéines et des polysaccharides. Au cours de la transformation par « fusion thermoplastique » le matériau devient malléable et peut être mis en forme dans des conditions de faible hydratation. Guilbert et Cuq (1998) ont schématisé les étapes de fabrication des films par voie sèche dans la figure III. 3.

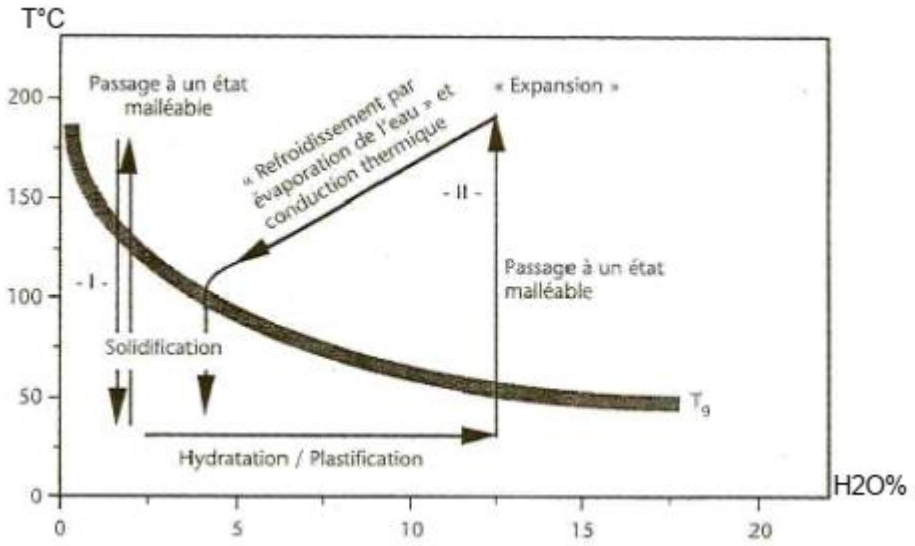


Fig. III. 3. Représentation schématique des étapes de fabrication de films par voie sèche (d'après Guilbert et Cuq 1998).

La fusion correspond à la transition solide-liquide des structures cristallines du polymère; celles-ci passent à l'état désorganisé par une augmentation de la température. Le seuil au-delà duquel l'état est désorganisé correspond à la température de fusion du polymère,

qui est d'autant plus élevée que les forces intermoléculaires sont importantes. D'autres facteurs tels que la longueur des chaînes, la présence d'impuretés, de diluants ou de plastifiants peuvent influencer le seuil de transition.

La transition vitreuse correspond au passage d'un état vitreux métastable à un état dit caoutchoutique des zones amorphes des polymères. Tout comme la fusion, la transition vitreuse repose sur une augmentation de la température au-delà d'un seuil dit : température de transition vitreuse. La transition vitreuse résulte d'une augmentation du désordre dans la matrice, mais également du volume libre et des mouvements dans la matrice. Cette température de transition vitreuse est influencée par la taille et la polarité des groupes latéraux des chaînes polymériques ainsi que par leur masse molaire, la présence de ponts intermoléculaires ou encore de plastifiants La mise en forme par « fusion thermoplastique » nécessite des températures supérieures à la température de transition vitreuse ou à la température de fusion ce qui signifie qu'il faut avoir une connaissance précise du comportement des matières premières au cours du chauffage (Gaudin et al., 1999).

La mise en forme est généralement obtenue par les procédés d'extrusion, de calandrage, d'extrusion-soufflage, d'injection ou de thermoformage, classiquement appelés procédés de « fusion thermoplastique ». Ces installations sont généralement adaptées aux matériaux synthétiques pour lesquels les propriétés de mise en forme sont connues et les paramètres de fabrication optimisés.

Pour la transformation des matériaux filmogènes comestibles, il faut prendre en considération les spécificités des polymères d'origine naturelle : leur relative sensibilité thermique, mécanique et chimique et les fortes viscosités développées par les phases malléables ou « fondues » au-delà des températures de transition vitreuse et de fusion. Les paramètres du procédé (température, teneur en plastifiants, temps de séjour, *etc*.) doivent donc être optimisés pour ces nouvelles matières premières.

Le choix de la formulation d'un film ou d'un enrobage dépend certes du produit sur lequel il doit être appliqué, en particulier de son adéquation avec ses caractéristiques sensorielles, mais aussi et surtout de son efficacité à ralentir les transferts de matière (eau, gaz, arôme, *etc*.) entre l'aliment et son environnement et entre les différents compartiments au sein même d'un aliment hétérogène. Il est donc nécessaire de pouvoir quantifier avec précision ces transferts sous la forme d'une valeur de perméabilité. Cette dernière est fondamentale pour estimer la durée de conservation optimale des produits emballés ou enrobés. Dans le chapitre III, nous allons explorer les mécanismes de transfert de matières et les facteurs influençant ces mécanismes.

Le but de ce travail est l'extraction de la chitine et la production du chitosane ainsi que leurs caractérisations physiques par spectroscopie infra-rouge. On s'est intéressé également aux propriétés filmogène et émulsifiante du chitosane.

IV. 1. Matériels et solutions utilisées

Le matériel et les produits utilisés dans la réalisation de ce travail sont présentés dans le tableau IV.1.

Tableau IV. 1. Matériels et produits utilisés

Matériel		**Appareillage**	**Produits chimiques**
De laboratoire	**Biologique**		
Béchers, éprouvette, erlenmeyers, fioles jugées, les tubes à essai, verre à montre, Entonnoir, spatule, pipette. Barreaux magnétiques. Tamis. Papier filtre.	Les carapaces de crevettes	Balance. Agitateur. Agitateur à plaque chauffante. Centrifugeuse. - pH mètre. Thermomètre. - La hotte. Spectrophotomètre UV-vis. Etuve. Spectroscopie IR à transformation de Fourrier (FTIR)	Bleu de méthylène. Acide chlorhydrique (HCl). Hydroxyde de sodium (NaOH).

IV. 2. Préparation de la poudre de carapace

Les carapaces récupérées à partir des crevettes sont soumis à un lavage à l'eau de robinet plusieurs fois pour éliminer le maximum de tissus. Ensuite, elles sont séchées à température ambiante pendant 24- 72h selon la température (fig. IV. 1). A la fin les carapaces sont broyées. La poudre est stockée à froid pour une utilisation ultérieure.



Fig. IV.1. Les étapes de préparation de la poudre de carapace de crevette (mémoire de Hadache et Hamidi, 2020).

IV. 3. Préparation de la chitine et du chitosane

IV. 3. 1. Extraction de la chitine

IV. 3. 1. 2. La déminéralisation

- La poudre de carapaces est traitée avec une solution d'HCl (1.5M) à raison de (1 :10) sous agitation et à une température de 50°C pendant deux heures et 30 min ;
- A la fin le mélange a été filtré et lavé avec de l'eau distillée jusqu'au pH neutre (pH = 7) ;
- Un séchage à 60°C a été effectué dans l'étuve pendant 48 h ;

IV. 3. 1. 3. La déprotéinisation

- La carapace déminéralisé est mis sous agitation dans une solution alcaline de NaOH (2N) pendant 2h à température ambiante ;
- A la fin de la réaction la poudre traitée est filtré puis lavée abondamment à l'eau de robinet jusqu'à la neutralité (pH = 7) (fig. IV. 2);
- Le produit est séché dans l'étuve à 80°C pendant 48h. Ce produit constitue la chitine brute qui va servir à la préparation du chitosane.



Fig. IV. 2. Aspect de la chitine récupérée

IV. 3. 2. Préparation du chitosane : La désacétylation de la chitine

- Dans l'étuve à 110°C et sous une agitation, la chitine est traitée avec NaOH (50%), à raison de 1 :15 (P/V), pendant deux heures (fig. IV. 3) ;
- A la fin, le mélange est filtré et lavé jusqu'à pH neutre (De pH basique (14) a un pH neutre (7));
- Un séchage à 60°C a été effectué dans l'étuve pendant 18 h (Babuponnusamiet Muthu kumar, 2011).





Déminéralisation
T° (ambiante), 1h, HCl (1.5M)

Déproténisation,
90°, 18h, NaoH (2N)



Analyse IR



Analyse IR



Désacétylation
NaoH (50%), 2h, 110°C, 1 :15 (P/V)

Rinçage, séchage

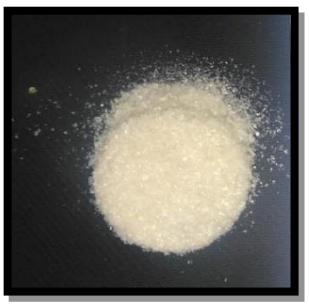


Fig. IV. 3. Schéma récapitulatif de préparation de la chitine et du chitosane

IV. 4. Caractérisation des produits obtenus

IV. 4. 1. Caractérisation de la chitine et du chitosane par spectroscopie infrarouge

La spectroscopie infrarouge (IR) est l'une des techniques d'analyse les plus importantes et les plus largement utilisées par les chercheurs travaillant sur la chitine et lechitosane, c'est une technique simple à mettre en oeuvre peu coûteuse qui a l'avantage de permettre l'anlyse d'échantillons à l'état solide et ne dépend pas de se solubilité qui est un problème dans le cas de la chitine (Ng,C.H, 2006).

IV. 4. 2. Test de solubilité du chitosane (Grabovac *et al.*, 2005).

Le test est réalisé en mettant 1g de chitosane dans une solution d'acide acétique à une concentration de 1% (fig. IV. 4).



Fig. IV. 4. Test de solubilité de chitosane

IV. 5. Etude de la propriété émulsifiante du chitosane

L'étude de la capacité du chitosane à former une émulsion en préparant des émulsions avec différentes concentration en chitosane.

IV. 5. 1. Composition de l'émulsion

L'émulsion est constitué par une phase aqueuse, une phase huileuse et l'émulsifiant qui permet d'obtenir une émulsion stable. La composition de l'émulsion est présentée dans le tableau III. 2.

Tableau IV. 2. La composition de l'émulsion

La phase	La composition
Aqueuse (90%)	Eau distillée
Huileuse (10%)	Huile d'olive
L'émulsifiant	Chitosane à 3%

Il est à noter que la phase aqueuse est composée d'eau distillée et de chitosane à 3% dont la quantité varie selon la matrice expérimentale présentée dans le tableau IV. 1.

Donc le chitosane à 3% est utilisé comme émulsifiant et il est préparé en faisant dissoudre 3g de chitosane dans 100ml d'acide acétique 1%.

IV. 5. 2. Formulation des émulsions

Pour faire cette étude on a opté pour la méthode des plans d'expérience qui nous permet de planifier nos expériences et faire varier plusieurs paramètres en même temps (tableau IV. 3).

Les paramètres étudiés dans ce travail sont : la quantité du chitosane (X_1), quantité du gomme xanthane (X_2), glycerol, huile d'olive et le pH final (pH_f) de l'émulsion (X_3).

Tableau IV. 3. La matrice expérimentale

	X_1	X_2	X_3
1	+	+	-
2	-	+	+
3	+	-	+
4	-	-	-
5	0	0	0
6	0	0	0
7	0	0	0
8	0	0	0

IV. 5. 3. L'émulsification

Faites chauffer les deux phases (aqueuse et huileuse) dans un bain marie. Introduire, ensuite et sous agitation, la phase huileuse dans la phase aqueuse goutte à goutte à l'acide d'une seringue et maintenir l'agitation jusqu'à refroidissement et formation d'une émulsion stable (fig. IV. 5).

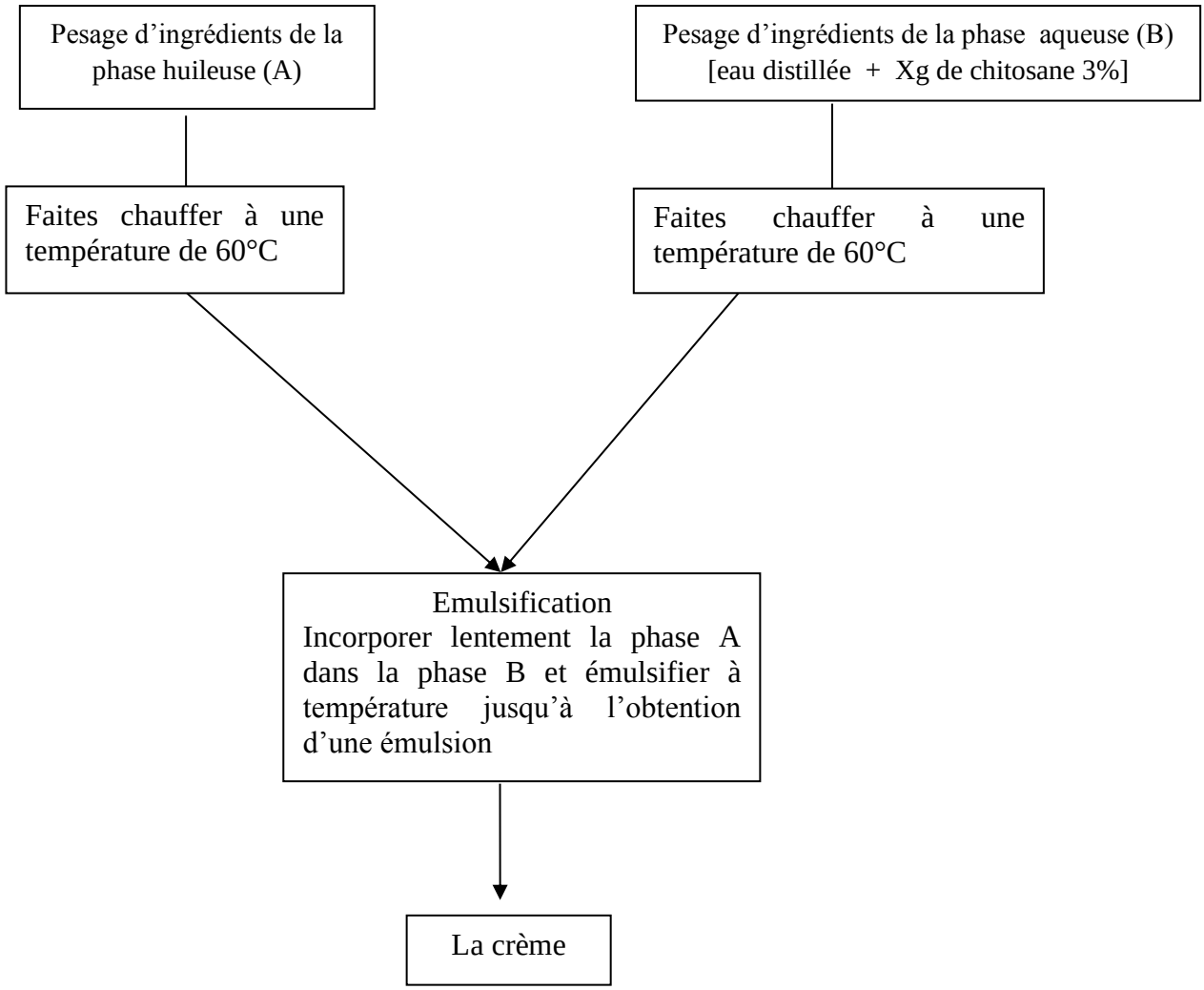


Fig. IV. 5. Diagramme de fabrication d'une crème en utilisant le chitosane comme émulsifiant

IV. 5. 4. Caractérisation des émulsions préparées

IV. 5. 4. 1. Détermination du pH (Le Hir, 1992)

Elle est effectuée par l'utilisation de pH-mètres, directement sur l'émulsion ou après dilution (à environ 10 %) dans de l'eau distillée. Elle est importante parce que le pH influence la stabilité des émulsions, la tolérance cutanée des préparations et les incompatibilités entre les différents constituants.

IV. 5. 4. 2. Test de stabilité à la centrifugation

Cette étude est utilisée comme test de stabilité, en fixant une limite d'un certain nombre de tours/mn. Ce test consiste à soumettre la crème pendant 10min à une vitesse de centrifugation 3000 trs/mn et on note la stabilité ou non de l'émulsion.

IV. 5. 4. 3. Mesure de la conductivité : sens de l'émulsion

La variation de conductivité est proportionnelle à la variation de proportion de phase externe quand il s'agit d'une émulsion H/E et la conductivité ne varie quasiment pas pour des changements de proportion d'une émulsion E/H. Cela est dû au fait que la conductivité d'une phase huileuse est 100 à 1000 fois inférieure à celle d'une phase aqueuse salée. Par conséquent le point où l'émulsion change de type correspond à une grosse variation de conductivité qui peut être détectée facilement, à la seule condition qu'il y ait une agitation suffisante pour assurer un système homogène (Le Hir, 1992).

IV. 5. 4. 4. Observation microscopique

Cet examen est réalisé en plaçant une petite quantité de la crème entre lame et lamelle d'un microscope photonique et de faire une observation au grossissement 40.

IV. 6. Préparation des biofilms de chitosane

Les biofilms sont préparés en utilisant les matériaux suivants : le chitosane (CS), le glycérol (G), huile d'olive (HO). Ce choix se base sur la complémentarité de la propriété de CS d'un côté et sur la nécessité de remédier à leur faible ductilité avec un plastifiant (G) tout comme à leur faible hydrophobicité (HO).

On a adopté la méthode de synthèse utilisées pour l'emballage ; la synthèse en solution (casting). Le chitosane a été utilisé pour former avec l'huile d'olive et glycérol des films, par voie solvant-casting. Les compositions choisies sont présentées dans le tableau IV.4

Tableau IV. 4. Composition des biofilms préparés par la méthode solvant-casting

Le chitosane	Le solvant
1%	/
2%	/
1%	1ml huile d'olive
1%	1ml glycérol
1%	1ml huile d'olive + 1ml glycérol

Le chitosane 1% et 2% sont préparés en faisant dissoudre 1 g et 2 g de chitosane 100ml d'acide acétique à 1%, respectivement.

Les biofilms de chitosane sont préparés en mélangeant le chitosane avec l'huile d'olive et/ou le glycérol selon les proportions présentés dans le tableau IV. 2. Une fois mélangé, les solutions obtenue sont bien agitées jusqu'à l'obtention d'un mélange homogène. La mixture obtenue, est ensuite, coulée dans des boîtes de Pétri et séchée à la température ambiante. Après 24- 48h le biofilms est décollé et conservé pour analyse ultérieure.

IV. 6. 1. Caractérisation physicochimique des biofilms préparés

IV. 6. 1. 1. Analyse infrarouge IR

La spectrométrie IR permet, également, par interprétation des spectres obtenus, de déceler les groupements fonctionnels contenus dans une molécule : alcool, aldéhyde, cétone, acide..., ainsi que les liaisons entre les carbones d'une chaîne (chaîne saturée, insaturée, caractère aromatique d'une molécule). Dans cet objectif, des fragments de $1cm^2$ de biofilms ont été analysés par FTIR pour déterminer leurs groupements fonctionnels et vérifier s'il y a apparition de nouvelles liaisons chimiques entre les différents composants du biofilm.

IV. 6. 1. 2. Absorption de l'eau

Un carré de $1cm^2$, de chaque biofilm préparé, de poids connu est trempé dans de l'eau distillée à température ambiante pendant 30 minutes.

Le poids, est déterminé après avoir éliminé l'excès d'eau. À l'aide d'un papier filtre, le film est immédiatement pesé. L'absorption de l'eau a été calculée en utilisant l'équation suivante :

$AE = (m_f - m_i) / m_i \times 100$…….... (**1**)

[Mémoire djari hichem et ramdani yacine , 2018]

Dont m_i et m_f sont respectivement la masse initiale et la masse finale des échantillons.

IV. 6. 2. 3. La solubilité

Est exprimée comme le pourcentage de matière sèche solubilisé après immersion dans l'eau distillée d'un fragment de 1cm^2 de chaque biofilm préparé pendant 5 jours à température ambiante (fig. V. 6).

Le pourcentage de solubilité = $(m_i - m_f) / m_f \times 100$……..……....(**2**)

(Djari et Ramdani, 2018.

V. 1. Rendement d'extraction de la chitine et du chitosane des carapaces de crevettes

Après avoir effectué un prétraitement adéquat des carapaces de crevettes, suivi d'un traitement chimique en quatre étapes (déminéralisation, déprotéinisation et désacétylation), le chitosane préparé devra se présenter sous forme d'une poudre inodore, sans saveur et de couleur blanche comme montré dans la photo V. 1.

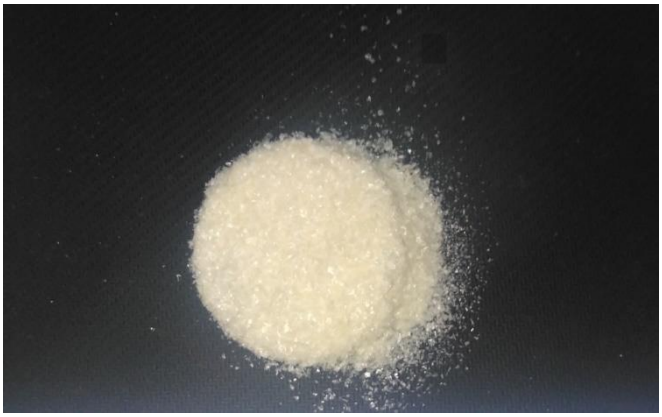


Photo V. 1. Poudre de chitosane

Les résultats du rendement d'extraction de la chitine et du chitosane sont présentés dans le tableau V. 1.

Tableau V. 1. Rendement massique obtenu après extraction de la chitine et du chitosane.

Poids de la poudre de carapace	Poids de la chitine obtenue	Rendement des produits chitineux en (%)	Rendement du chitosane
54.5g	38.00g	69.72	47.79%

Les cuticules des crustacés sont constituées essentiellement de minéraux, de protéines et de chitine (Kurita, 2006). Selon Mignotte et ses collaborateurs (2012), 45g de matière sèche permettent d'obtenir 8 à 10g de chitine, tandis que dans notre travail on a obtenu 38g de chitine qui correspond à un rendement de 69.72% par rapport au poids de la carapace traitée.

V. 2. Caractérisation physicochimique de la chitine et du chitosane produits

V. 2 .1. Test de solubilité du chitosane

Ce test consiste à mettre 1 g de chitosane dans 100ml d'une solution d'acide acétique à 1% et d'observer sa solubilité. Une solubilité à 100% a été observé ce qui confirme que le produit obtenu est du chitosane.

V. 2. 2. Analyse par spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (IRTF) de la chitine et du chitosane

V. 2. 2. 1. La chitine

Le spectre infrarouge de la chitine extraite est représenté sur la figure V. 1. D'après cette figure, il a été noté que des pics d'absorption intenses vers 1658 et 1561 cm^{-1}, typiques pour les groupements amides et ils correspondent respectivement aux vibrations d'élongation des groupements carbonyle, présent dans la chitine (v(c=o) nommé Amide I) et de groupement amine (v(NH2) nommé Amide II). En outre, on note l'absence de pics vers la région 1540 cm^{-1}, là ou généralement les protéines nous donnent d'intenses pics d'absorption, ce qui prouve qu'il y a eu la déprotéinisation de la carapace.

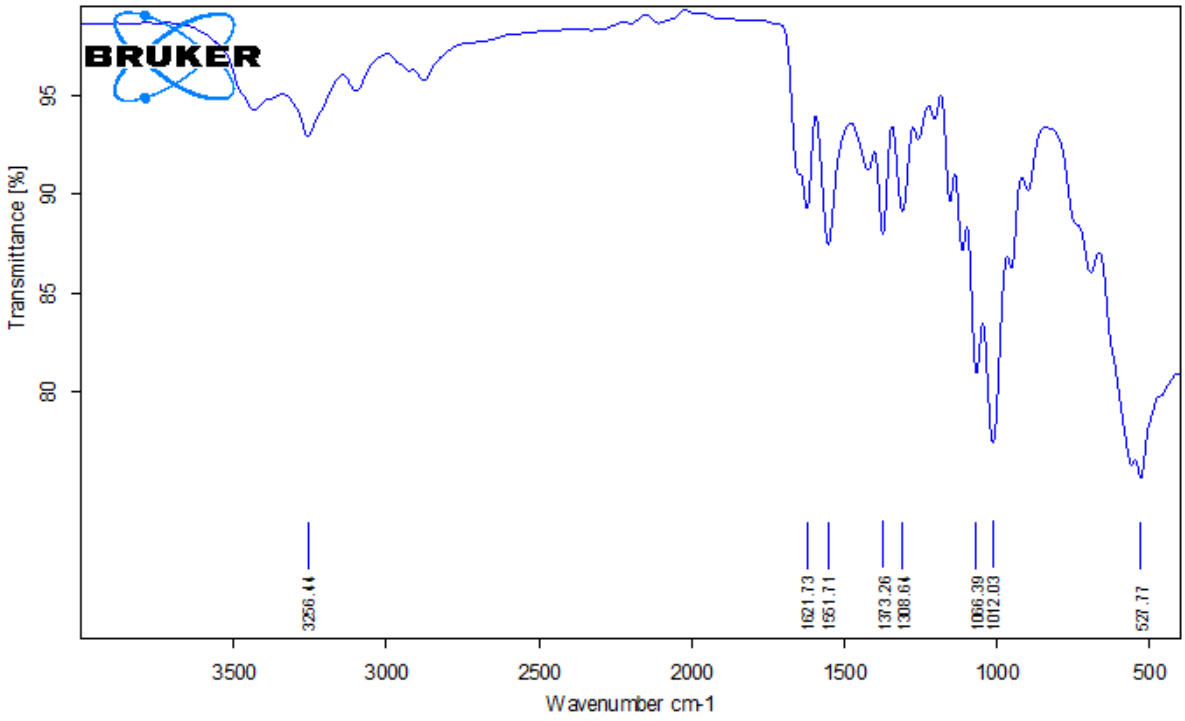


Fig. V. 1. Spectre IR de la chitine

Toutes les bandes observées par l'IRTF de la chitine extraite sont détaillées dans le tableau V. 1. Ce tableau montre que les pics d'absorbation à 1658 et 1625 cm^{-1} sont attribués à la bande amide 1 et à la vibration d'élongation de la liaison C=O respectivement, ce qui est typique pour la α-chitine, en revanche dans le cas de la β-chitine un unique pic d'absorption vers 1620 cm^{-1} a été enregistré.

Tableau V. 1. Les bandes d'absorptions caractéristiques de la chitine extraite.

Nombre d'onde (cm^{-1})	Liaison et types de vibrations
3256	Vibration d'élongation du (O-H…O) (liaison hydrogène intermoléculaire) N-H de l'amine et de l'amide secondaires.
1620	Vibration d'élongation C=O (Amide I, bifurcation des liaisons intermoléculaire ponts hydrogène C=O…NH et O-H…O=C)
1561	Vibration d'élongation C-N et de déformation dans CO=NH (Amide II)
1373	Recourbement de CH et déformation (symétrique) du CH3
1308	Vibration d'élongation du C-N et de déformation du N-H (Amide III), agitation hors du plan du CH2
1153	Vibration d'élongation du C-O-C (liaison oxygène asymétrique)
1066	Vibration d'élongation de C-OH
527	Recourbement hors plan C-C

V. 2. 2. 2. Le chitosane

L'analyse par spectroscopie infrarouge nous a permis d'obtenir le spectre présenté dans la figure V. 2.

Le spectre FTIR du chitosane montre des pics d'absorption à 1656 et à 1584 cm^{-1} qui correspondent respectivement à la bande d'absorption des carbonyles (C=0) dans le groupement NHCOCH3 et la bande d'absorption des amines (-NH2) dans le groupement NHCOCH3. La bande à 1375 cm^{-1} est attribuée à la vibration d'élongation de la liaison C-N, des pics d'absorption à 3357, 1421 et à 1026 cm^{-1} sont attribués respectivement à la vibration d'élongation du groupement OH et de la liaison H-N du groupe NH2, déformation antisymétrique de la liaison CH des méthylènes et vibration d'élongation de C-OH dans l'acétamide.

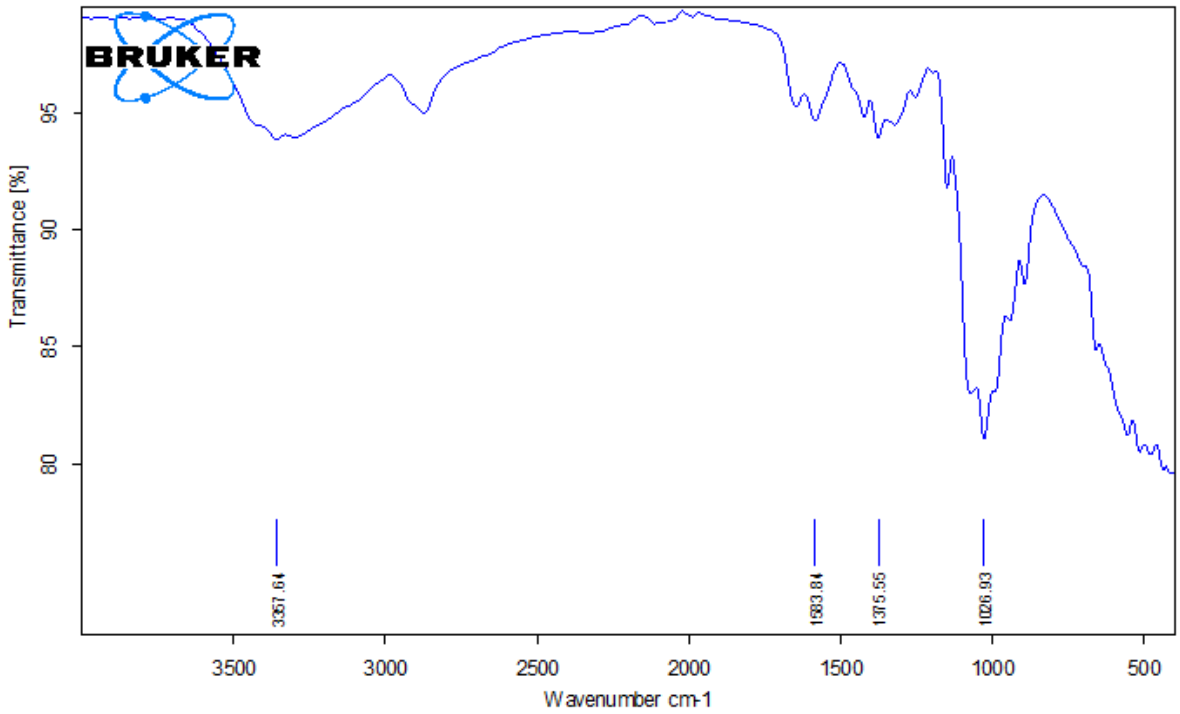


Fig. V. 2. Spectre IR de la chitosane

Ainsi, l'absence du pic correspondant à la bande d'amide II à 1550 cm^{-1} prouve bien qu'il est désacétylé. L'analyse FT-IR permet de conclure que le chitosane obtenu présente une structure similaire à celle du chitosane commercial.

Toutes les bandes caractérisqtiques du chitosane obtenu sont présentées dans le tableau V. 2.

Tableau V. 2. Les bandes d'absorptions caractéristiques du chitosane produit.

Nombre d'onde (cm^{-1})	Liaison et types de vibrations
3357	Vibration d'élongation du (O-H…O) (liaison hydrogène intermoléculaire)
1584	Déformation angulaire de la liaison N-H des amines
1421	Vibration de déformation C-H (antisymétrique)
1375	Vibration d'élongation du C-N et de déformation du N-H (Amide III)
1026	Vibration d'élongation de C-OH dans l'acétamide

La comparaison des deux spectres de la chitine et du chitosane nous permis d'émettre plusieurs remarques. Les deux spectres montrent une large bande à 3100-3500 cm^{-1} correspondant aux vibrations d'élongation de -NH et -OH incluant les liaisons d'hydrogène. L'absorbance de cette bande dans le spectre du chitosane diminue en intensité et se déplace vers une fréquence plus élevée. Ceci est un signe de diminution des liaisons d'hydrogène en raison de l'état amorphe du chitosane.

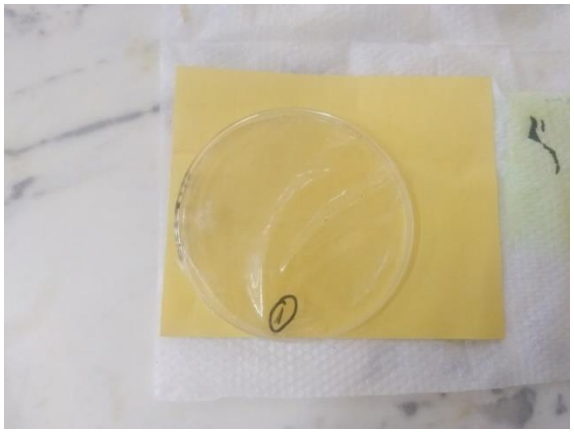
Les absorbances des pics dues aux vibrations d'élongation de -CH et –CH2 à 2887 cm^{-1} et 2926 cm^{-1} deviennent plus faibles dans le cas du chitosane (Cahu et al, 2012). L'apparition d'un seul pic à 1656 cm^{-1} montre que la chitine extraite est une α-chitine (un arrangement antiparallèle des macromolécules (kassai, 2008) qui reflète des liaisons intermoléculaires de faible énergie) (Grini et al. 2009) et l'absence de pics à 1550 cm-1 dans le spectre du chitosane montre que ce dernier et très désacétylé.

Le spectre de la chitine montre des bandes dans la région 500-900 cm^{-1} appelée région sensible de la structure. L'absence de ces bandes dans le spectre du chitosane reflète le changement de la structure du polysaccharide (Shaojie et al., 2003).

V. 3. Application du chitosane

Dans ce travail différents membranes à base de chitosane ont été préparés. Ces derniers ont été analysés et caractérisés par rapport à leurs structures chimiques, la concentration et la composition chimique

V. 3. 1. Préparation des membranes



Biofilm Chitosane 1%



Biofilm Chitosane + Glycérol



Biofilm Chitosane 2%

Photo V. 2. Les biofilms préparés

IV. 3. 1. 1. Caractérisation des membranes du chitosane à 1% et 2%

Le résultat de l'analyse par spectroscopie infrarouge des membranes de chitosane 1% et 2% est présenté dans la figure V. 3.

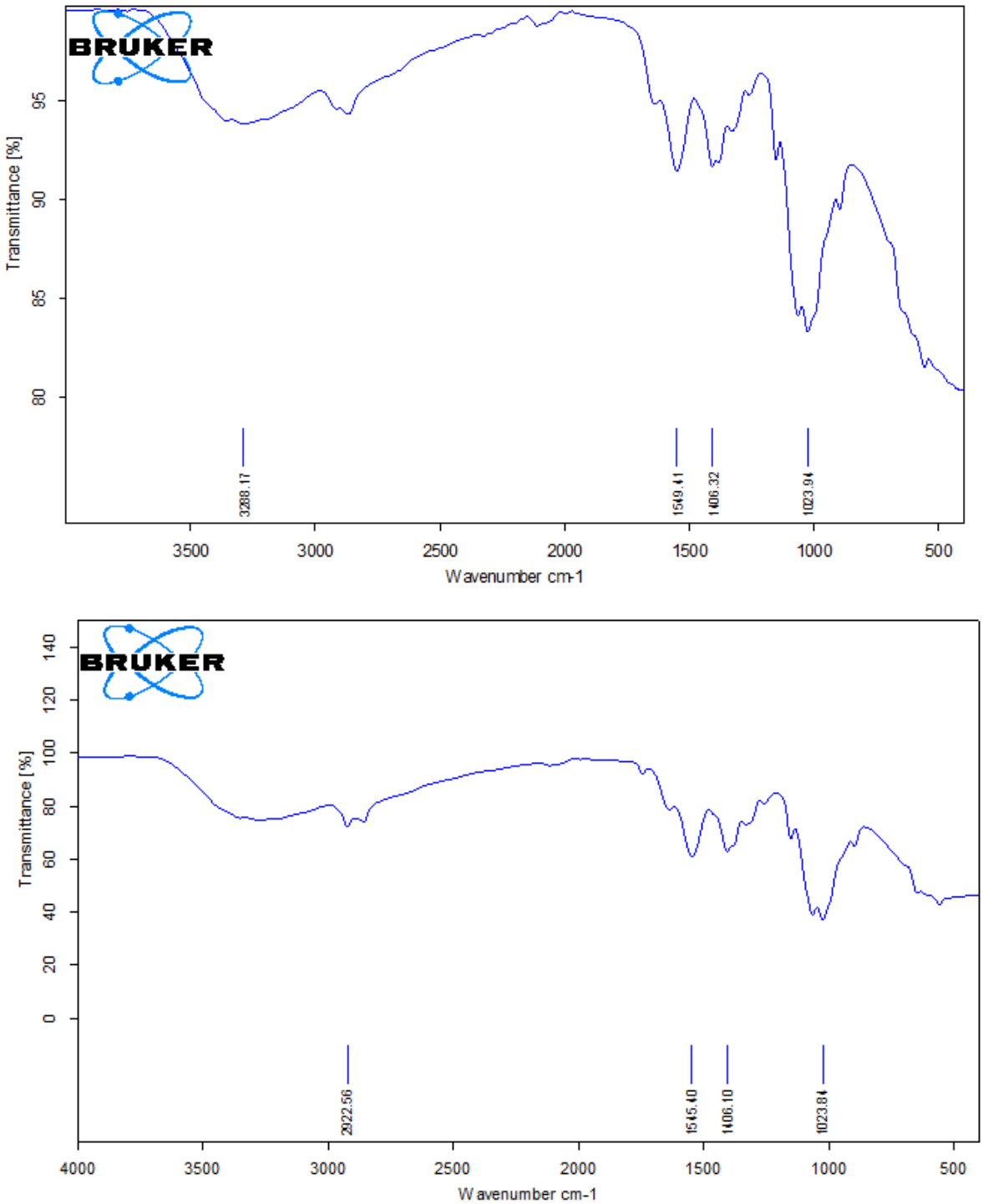


Fig. V. 3. Spectre IR du chitosane 1% et 2% respectivement.

L'analyse des résultats montrent une grande similitude entre les différents spectres. En effet, on remarque la même allure des différents spectres indiquant l'apparition des mêmes bandes d'absorption avec la même évolution des espèces chimiques en présence.

IV. 3. 1. 2. Caractérisation des membranes du chitosane 1% + 1ml d'huile d'olive

L'analyse par spectroscopie infrarouge de la membrane produite en mélangeant une solution du chitosane à 1% avec 1 ml d'huile d'olive nous a permis d'obtenir le spectre présenté dans la figure V. 4.

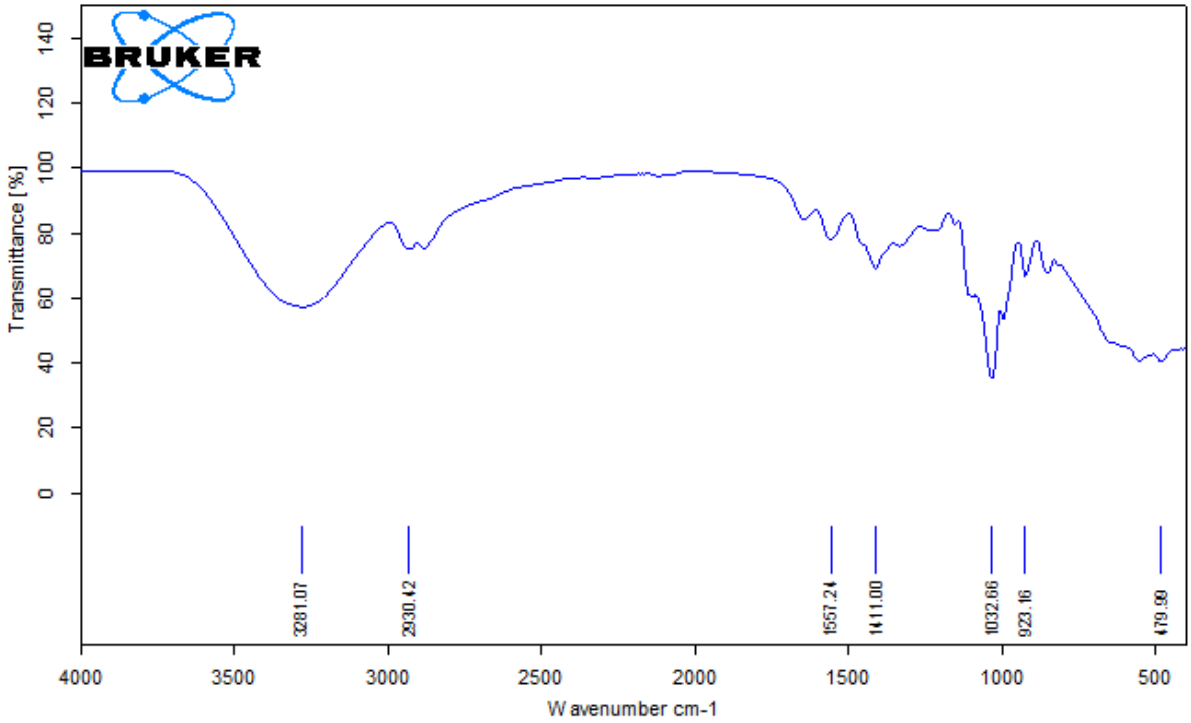
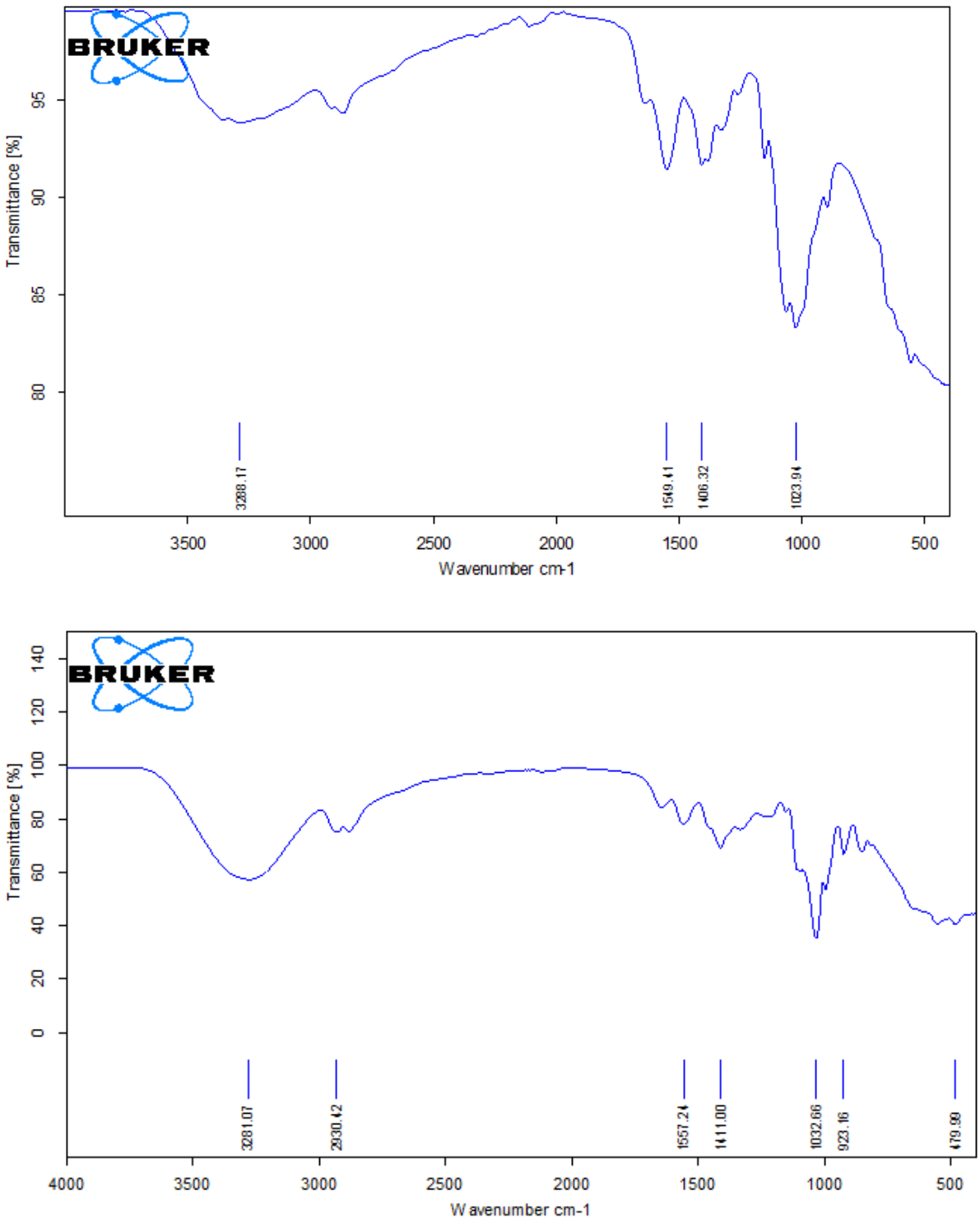


Fig. V. 4. Spectre IR de la chitosane 1% + 1 ml l'huile d'olive

On observe un pic centré à 3281.07 cm $^{-1}$ corresponds à la vibration de groupement hydroxyles –OH. Un pic vers 2930.42cm^{-1} attribué aux vibrations d'élongation des groupements –CH, un pic à 1567.14cm^{-1} correspondant aux vibrations d'élongation C-N et de déformation dans CO=NH (Amide II). Une bande d'absorption centrées à 1411 cm^{-1}, attribuée aux vibrations de déformation asymétriques et symétrique des groupements –CH, une autre bande à 1134.18 et 923.16 cm^{-1} correspondant aux rations d'élongation des liaisons C-O-C, C-C et -CH2, correspondent quant à elles à des esters aliphatiques.

IV. 3. 1. 3. Caractérisation des membranes du chitosane 1% + 1ml glycérol

L'analyse par spectroscopie infrarouge de la membrane produite en mélangeant une solution du chitosane à 1% avec 1 ml de glycérol nous a permis d'obtenir le spectre présenté dans la figure V. 5.



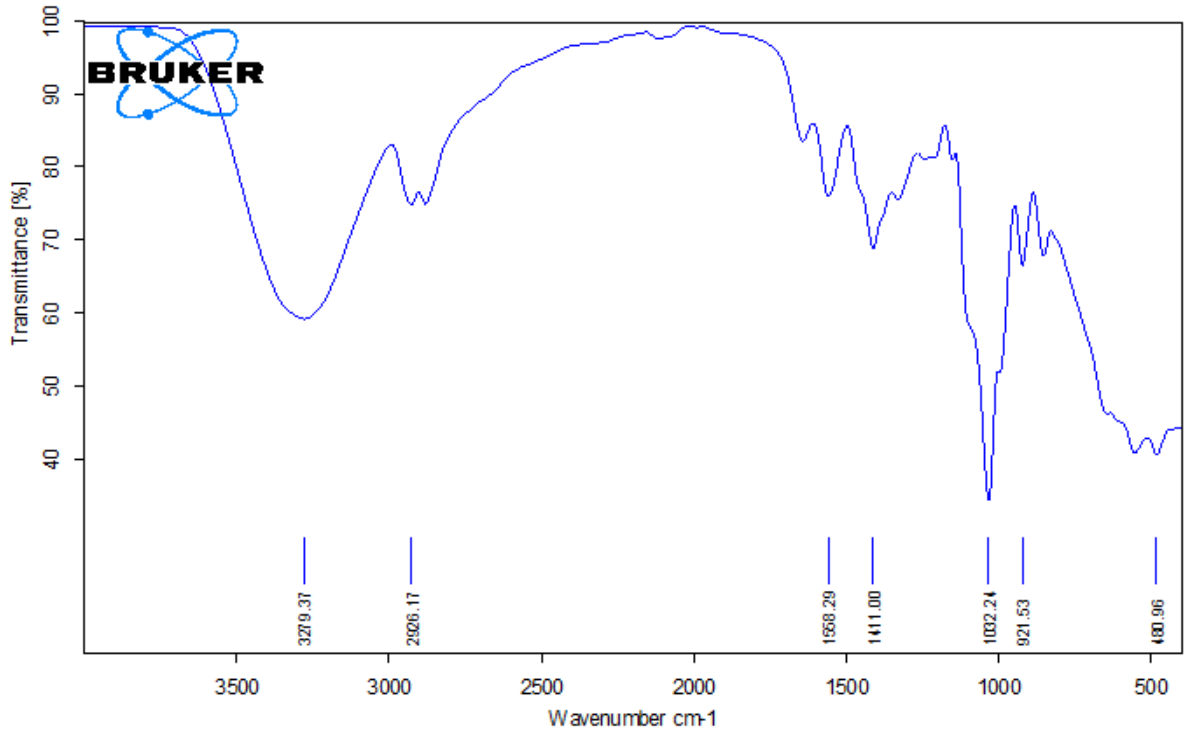


Fig. V. 5. Spectre IR de la chitosane 1% + 1 ml de glycérol

On remarque la même allure de membrane du chitosane 1%+1ml huile d'olive des différents spectres indiquant l'apparition des mêmes bandes d'absorption avec la même évolution des espèces chimiques en présence. On remarque une importante de augmentation l'intensité d'absorption en groupement hydroxyles-OH a 3279 cm^{-1} est associée à la présence des acides gras insaturés de fonction cis double liaison .ainsi que la liaison de C-OH dans l'acétamide à 1032 cm^{-1}.

Cependant, il est à noter que la membrane à base d'huile d'olive avait une structure solide par rapport à celle du glycérol qui était un peu moue et plus élastique par rapport aux membranes de chitosane seul et celle préparée par le mélange chitosane- huile d'olive.

IV. 3. 2. Test de solubilité

Est exprimé comme le pourcentage de matière sèche solubilisé après immersion dans l'eau pendant 5jours à température ambiante. Le résultat obtenu sont présentés dans le tableau V. 3.

Tableau V. 3. Résultats du test de solubilité du chitosane et les membranes préparées

Poudre	La masse initiale	La masse après trempage dans l'eau	solubilité	Le résultat
Chitosane	1 g	0.45 g	55%	Soluble
Chitosane + glycérol	0.108 g	0 g	100%	Soluble
Chitosane + l'huile olive	0.032 g	0 g	100%	Soluble
Chitosane + l'huile olive + glycérol	0.100 g	0.100 g	0%	Insoluble
Chitosane 2%	0.5 g	0.27 g	23%	Soluble

Le tableau V. 3, montre que la membrane à base de chitosane à une concentration de 1% présente un taux de solubilité de 55% tandis qu'à concentration de 2% la solubilité diminue à 23% donc on peut conclure que plus la concentration en chitosane augmente plus sa solubilité diminue. Ceci peut être dû à l'établissement des liaisons covalentes et des liaisons intermoléculaire qui renforce la structure du chitosane.

Le tableau V. 3, montre également que les membranes obtenues par le mélange chitosane- glycérol et chitosane- huile d'olive sont soluble à 100%. Tandis que la membrane préparée par le mélange chitosane- huile d'olive- glycérol qui totalement insoluble (photo V. 3).



Photo V. 6. Test de solubilité des membranes : chitosane 1%- huile d'olive (soluble) et chitosane- huile d'olive- glycérol (insoluble)

b) Absorption de l'eau

Le tableau V. 3, montre que toutes les membranes préparées sont solubles dans l'eau donc elles n'ont pas absorbées l'eau. Sauf pour la membrane chitosane- huile d'olive- glycérol qui n'est pas soluble et n'absorbe pas l'eau.

IV. 3. 2. Etude des propriétés émulsifiante du chitosane

Dans le but d'étudier les propriétés émulsifiantes du chitosane, plusieurs émulsions ont été préparées selon la méthode de plan d'expériences, en faisant varier la quantité de la solution du chitosane, la quantité de la gomme xanthane et le pH initial.

Les résultats de l'étude de stabilité mécanique par le test de centrifugation sont présentés dans le tableau V. 4.

Tableau V. 4. Résultats du test de stabilité des émulsions par centrifugation

	Chitosane	Gomme xanthan	pH	Stabilité de l'émulsion avant ajustement de pH	Stabilité de l'émulsion après ajustement de pH	pH de l'émulsion non ajusté
1	+	+	-	Instable	Stable	5.45
2	-	+	+	Instable	Stable	5.7
3	+	-	+	Instable	Instable	4.05
4	-	-	-	Instable	Instable	4.5
5	0	0	0	Instable	Instable	4.5
6	0	0	0	Instable	Instable	4.15
7	0	0	0	Instable	Instable	4.15
8	0	0	0	Instable	Instable	4.15

Le tableau V. 4, montre que toutes les émulsions préparées sont instable avant l'ajustement du pH qui varie de 4.05 à 5.45. IL est à noter que l'émulsion N°2 était instable juste après sa préparation (photo V. 4).

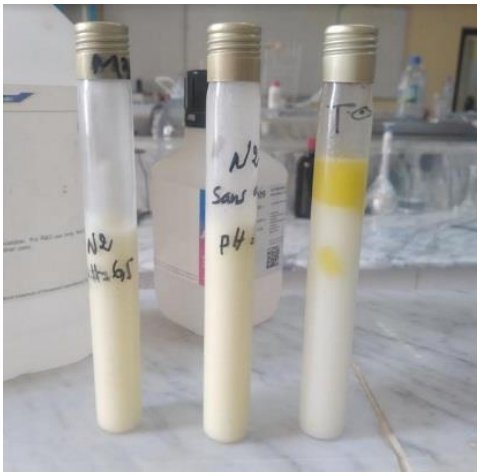


Photo V. 7. L'émulsion N°2 avant d'ajustement du pH

Après l'ajustement du pH à une valeur de 6.5 et en absence de gomme xanthane on a également obtenu une émulsion instable qui correspond à la formule 3. Tandis que les autres émulsions sont stables dans l'intervalle de pH allant de 5.5 à 6.5. Ceci peut être expliqué par la stabilité du chitosane dans cet intervalle de pH ou tous les groupements NH_2 sont protonés ainsi qu'à la présence de la gomme xanthane L'effet positif de la gomme xanthane est dû au fait qu'elle est soluble dans l'eau et est utilisée dans la préparation des émulsions. Dans des conditions appropriées de concentration, elle est utilisée pour empêcher la floculation et le crémage des émulsions, en raison de l'augmentation de la viscosité apparente de la phase continue, ce qui retarde le mouvement des gouttelettes dispersées. Et grâce à ses propriétés rhéologiques et d'épaississement uniques, la gomme xanthane est reconnue comme un excellent stabilisant d'émulsion. Elle est également reconnue pour sa très grande stabilité à différentes conditions de pH et de température en plus d'être soluble à chaud et à froid (Benmeziane, 2013).

Le test de stabilité physique effectué par centrifugation à 3000 trs/ min a montré que toutes les formules préparées étaient instables. Ceci est peut-être dû à la concentration et/ou quantité du chitosane utilisée (photo V. 5).

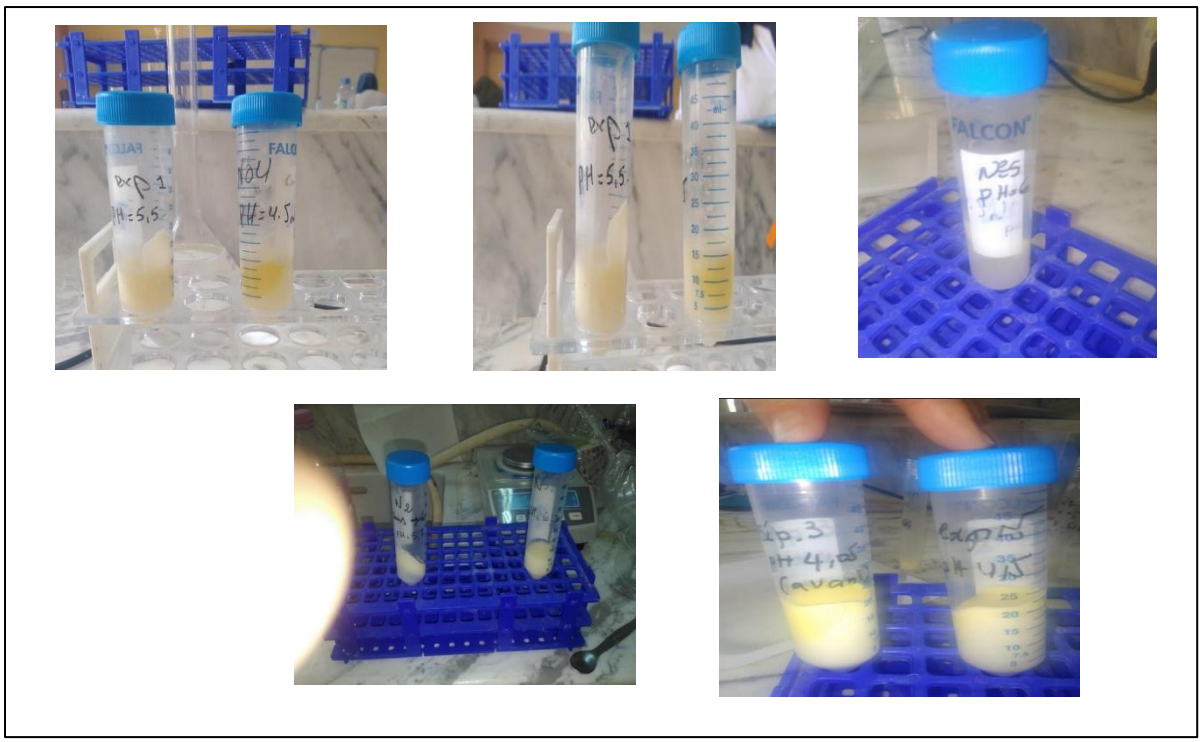


Photo V. 8. Test de stabilité des émulsions par centrifugation

L'objectif de ce travail est la préparation d'un biopolymère, le chitosan, à partir duquel on a préparé des biofilms pur (chitosane seul) et un biofilm composite (chitosane- huile d'olive, chitosane- glycérol et chitosane- huile d'olive- glycérol), ainsi que l'étude de sa capacité à donner des émulsions stables.

La première étape de notre travail a porté sur la préparation de chitosane à partir de carapace de crevette dont le rendement de production était de 47,79%. Ce chitosane est soluble dans la solution d'acide acétique 1%.

La caractérisation par spectroscopie infrarouge a confirmé que les produits obtenus sont la chitine et le chitosane, ou on a décelé l'apparition des pics caractéristiques de ces bioplolymères.

Dans la deuxième étape nous avons tenté de préparer trois biofilms : chitosane (1%), chitosane (2%), chitosane (1%)- huile d'olive, chitosane (1%)- glycérol et chitosane (1%)- huile d'olive- glycérol, par la méthode de casting..

Le chitosane a donné un biofilm transparent et rigide, le biofilm chitosane- huile d'olive est opaque, souple et plus élastique, alors que le chitosane- glycérol a donné un biofilm mou.

L'analyse des biofilms obtenus par spectroscopie infrarouge a montré des spectres différents avec apparition et disparition de pics expliquant la formation de liaisons hydrophobes entre le chitosane et les constituants d'huile d'olive et le glycérol. L'étude de l'absorption de l'eau des biofilms a montré que tous les biofilms préparés n'absorbent pas l'eau, par contre on a noté la solubilisation totale des biofilms composite dans l'eau distillée (chitosane-huile d'olive, chitosane-glycérol).

L'étude de la capacité émulsifiante a montré que le chitosane a la capacité de former une émulsion. Cependant toutes les émulsions qu'on a obtenues sont instables dans certaines conditions de centrifugation, température ou pH. Le manque de moyen et de temps nous a empêché de bien développer ce sujet interessant qui s'insecrit dans le cadre d'un projet de recherche portant sur la préparation, caractérisation et application de chitosane, donc en perspectives on propose de :

- Déterminer les propriétés mécaniques des biofilms ;
- Faire une application d'enrobage de fruits et étudier les échanges gazeux et l'évaporation de l'eau ;
- Etudier les conditions de stabilité des émulsions à base de chitosane.

Références bibliographique

-A-

Abdelghani Hassainia (2008). Obtention du biopolymere «chitine» à partir du champignon «agaricusbisporus»:extraction et caracterisation.Mémoire de master, Université 8 mai 1945 Guelma.

• Abdulhadi Aljawish. (2013). « Fonctionnalisationenzymatique du chitosane par des composes phénolique :évaluation des propriétésbiologique et physicochimique de ces nouveaux bio polymère».Thèse de doctorat. Université de Lorraine.

• Amroundyhia Taharountkahina (2011) production etutilisation des chitosanes dans les procédés de coagulation-floculation. Mémoire de Master, Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.

• Ararem Faïza (2010), Synthèse et caractérisation de biopolymères Application au piégeage de colorants, Université D'Oran Es-Sénia.

• Arbia Wassila,(2007). Production de la chitine par voie fermentaire à partir d'une biomasse marine. Thèse de Magister, ENP.

-B-

• Badaoui faiza (2012) comportement rhéologique de solutions de biopolymères. Application au chitosane, au poly(vinylealcool) et à leurs mélanges. Université M'hamed Bougara-Boumerdes.

• Bellouti Fatima et Hadj djilani Soumeya (2018), Préparation de chitosane à partir des carapaces de crevettes : étude et caractérisations,Université Djilali Bounaâma de Khemis Miliana.

• Ben DhiebFatima(2014) «développement et caractérisation de films biodégradables à base d'acide poly lactique et de chitosane ».Université de Laval, Canada.

• Bengherbi seif el-islamet Baghlilatifa (2017). Contribution à l'étude de l'effet antimicrobien, adsorbant de colorants et chélateur des métaux lourds sur billes de chitosane élaborées à partir de déchets de crustacés. Université de Tlemcen.

• Berthold, a., cremer, k., and kreuter, j. S. T. P.(1996) "preparation and characterization of chitosan microspheres as model for anti-inflammatory drugs." journal of controlled release 39.1: 17-25.

• Boualem Zohra et Hocine Ahlem (2018), valorisation biotechnologique des coproduits de crevette rouge *aristeus antennatus* (risso, 1816): etude du pouvoirantioxydant et antimicrobien du chitosane, université Abdel Hamid Ibn Badis-mostaganem .

-C-

• Chatelet, C., O.Damour, and A. Domard. Influence of the degree of acetylation on some Biological properties of chitosan Films. Biomater., 22 (2001) 261-268.

• ChennitMelha et Naityahialamia(2015) . Elaboration d'un composite à base de chitosane, le poly acidelactique et cloisite 30b par voie fondue université a. Mira – bejaia .

• 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).

-D-

• Djelad Amal 2011 préparation des materiaux composites chitosane- zeolithes. Application dans l'adsorption du cuivre. Oran.

- De Holanda, H. D, and Netto, F.M. "Recovery of components from shrimp (*Xiphopenaeus Kroyori*) processing waste loy enzymatic hydrolysis "Journal of food science 71.5 (2006).

-F-

• Frantz le devedec (2008) séparation des oligomères du chitosane chromatographie d'affinité sur ions métalliques immobilisés. Québec, Montréal.

-G-

Guilbert et Gontard, Edible Wheat Gluten Films: Optimization of the Main Process Variables and Improvement of Water Vapor Barrier Properties by Combining Gluten Proteins with Lipids,1992.

-H-

• Hafirassou Anissa Zohra (2017), Evaluation, in vitro, du potentiel du chitosane pour la luttecontre les champignons responsables des Onychomycoses à Constantine, Université des Frères Mentouri – Constantine.

• Haidra Fatima (2018) préparation de chitosane a partir de crustacéslocaux et son emploi dans la coagulation-floculation de suspensions de bentonite .Abdelhamidibnbadis – mostaganem.

- Haddache Meriem & Hamidi Hala, Etude de l'influence des conditions d'extraction sur les propriétés physicochimiques du chitosane, 2019/2020.

-K-

• Kadouche slimane (2013), Utilisation des biomateriaux dans le traitement des eaux université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou.

• Keddou Meriem (2008), élaboration, caractérisation et application de membranes polymeres à base de chitosane, Universitém M'hamed Bouguera Boumerdes.

• Klokkevold PR., Fukayama H., Sung EC., (1999)- The effect of chitosan (poly-Nacetyl glucosamine) on lingual hemostasis in heparinized rabbits. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery Volume 57, Issue 1, January 1999, Pages 49-52.

• Koelsch C.M., Labuza T.P. (1992). Functional, physical and morphological properties of methyl cellulose and fatty –based edible barriers. *J. Food Sci Technol.,* 25, 404-411

• Kester and Fennema 1986; Krochta and De Muider-Johnston. 1997; Krochta et al. 1994).

-L-

• Lavall, R, L. G Assis, O.B, and Campana-Flho, SP: B.Chitin from the pens of Paligo. SP: Extraction and charactization . Bioresource technology 98,13 (2007): 2464-2472.

-M-

• MaletteWG., Quigley HJ., Gaines RD., (1983) - Chitosan: A New Hemostatic The Annals of Thoracic Surgery. Volume 36, Issue 1, July 1983, Pages 55-58.

• Messaoud touatia (2016) contribution à la purification de la chitine à partir des coproduits de la crevette rouge *aristeus antennatus* (risso, 1816) université Abdelhamidibnbadis- 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).

-P-

Peyron ... Bou Zert [Texte intégral]. Article B96. Paru dans Encyclopédie berbère, 1991

- Pominville – Racette Malhie (2015). "la transformation de carapaces de crevettes en chitosane" Rapport intermédiative – groupe 1A. Université de Sherborooke.

- • Baba T, Uemura R, Hiroto M, Arai Y (1987) Structural features of amylomaize starch. McDonald AML, Stark JR, Morrison WR, Ellis RP (1991)

-R-

• Ribeiro, m. P., et al. "development of a new chitosan hydrogel for wound dressing."wound repair and regeneration 17.6 (2009): 817-824.

-S-

• Shawky h. A., el-hag a.,ali, r. A. El sheikh. Wiley interscience. 2006.

• Superior Ct. 537 (1955). Messikomer v. Baldwin Locomotive Works et al., Appellants. Superior Court of Pennsylvania.

-T-

• Taouint Aissa Nadjia.(2016). «Préparation de chitosane à partir de la biomassemarine.Application au conditionnement des bouesurbaines ».Thèse de Magister. Université de Tizi-Ouzou.

-V-

• Valentin r.Thèse de doctorat. Université de montpellier ii (2005) france.

-X-

• Xia, P. Lui, J. Zhang, J. Chen, Biological activities of chitosane and and chitoologosaccharides, Food Hydrocolloids, 25(2), 170-179,(2011)