

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة تلمسان  
Université Aboubakr Belkaïd– Tlemcen –

Faculté des sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers



## MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de MASTER  
Filière: Sciences Alimentaires  
Option : Sécurité Alimentaire et Assurance Qualité

## THEME

**Optimisation de l'extraction du chitosane par voie hydrochimique à partir des déchets des coproduits chitineux.**

Présenté par : **HAMEDI CHAHRAZAD**  
**GUEZOULI SOUMIA**

Soutenu le 28 / 06 / 2020, devant le jury composé de :

<b>Présidente</b>	Melle GHANEMI Fatima Zohra	MCB	Univ de Tlemcen
<b>Examineur</b>	Mr AZZI Nour Eddin	MAA	Univ de Tlemcen
<b>Encadrante</b>	Mme YUCEFI Fatma	MCA	Univ de Tlemcen

**Année universitaire : 2019/2020**

# REMERCIEMENTS

*Avant toute chose, nous remercions **DIEU**, le tout puissant, pour nous avoir donné la force, la volonté et la patience pour la réalisation de ce travail.*

*Nous remercions nos parents qui nous ont soutenus, encouragé et surtout supporté tout au long de ce travail. Sans eux tout aurait été beaucoup plus difficile.*

*Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements à notre promotrice, **Mme Youcefi F**, Maitre de conférences au département d'agronomie Faculté SNV/STU université A.B.B Tlemcen, pour nous avoir guidées et encouragées pendant toute la durée de ce travail. Ses conseils, ses orientations, sa sagesse, sa rigueur scientifique, sa confiance en nous et ses efforts fournis au cours de la rédaction de ce mémoire nous ont permis de mener à bien ce travail.*

*Nous tenons à présenter également nos remerciements à **Mlle Kherbache A** doctorante au département d'agronomie Faculté SNV/STU université de Tlemcen pour son aide, ses orientations et ses conseils judicieux.*

*Nous exprimons nos vifs remerciements à **Mlle Ghanemi F**, Maitre de conférences au département d'agronomie Faculté SNV/STU université de Tlemcen, pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire.*

*Nous tenons à remercier également **Mr Azzi N**, Maitre de conférences au département d'agronomie Faculté SNV/STU université de Tlemcen, pour le temps qu'il a consacré pour évaluer ce travail.*

**CHAHRAZED & SOUMIA**

## **RESUME :**

Le chitosane est une substance biodégradable d'origine naturelle obtenue à partir de déchets de coproduits de crevettes par un processus chimique impliquant la déminéralisation, la déprotéinisation et la désacétylation. La présente étude consistait à optimiser et d'évaluer les conditions de production de chitosane et de les caractériser. Les expériences ont porté sur les effets des interactions de Cinque facteurs. Notre résultat est fait sur l'étude des articles s'inscrivant dans le même contexte. D'après La synthèse des résultats des articles, on peut conclure que : Les valeurs optimales obtenues expérimentalement une déminéralisation avec une concentration d'HCL (1.1N), de rapport s / l (1 : 20), de température d'agitation (50°) pendant (3h). La méthode de Kjeldhal est la meilleure pour déterminer le taux de protéines avec une concentration d'NAOH (2.5) à une température (75°) pendant (6h) avec un rapport (1 :20). La valeur la plus élevée de DD (90%) sous condition optimisé de (40%) d'hydroxyde de sodium à (121°) C pendant (3h) dans l'autoclave avec un rapport solide - liquide (1 :20 / g : ml). Les analyses qualitatives permettent de confirmer la pureté et les caractérisations physicochimiques du chitosane. La fabrication de chitosane concourt à l'amélioration de la préservation de la nature.

**Mots clé :** Chitosane, Optimisation, Plan expérimental, condition optimal.

## **ABSTRACT**

Chitosan is a biodegradable substance of natural origin obtained from shrimp by-product waste by a chemical process involving demineralization, deproteinization and deacetylation. The present study consisted of optimizing and evaluating the conditions for chitosan production and characterizing. The experiments focused on the effects of the interactions of five factors. Our result is made on the articles study in the same context. According to the synthesis of the results of articles, we conclude that: The optimal values obtained experimentally demineralization with a concentration of HCL (1.1N), of s / l ratio (1:20), of stirring temperature (50 °) during (3h). The Kjeldhal method is the best for determining the protein level with a concentration of NAOH (2.5) in a temperature (75 °) for (6h) with a ratio (1:20). The highest DD value (90%) under optimized condition of (40%) sodium hydroxide at (121 °) C for (3h) in the autoclave with a solid - liquid ratio (1: 20 / g : ml). Qualitative analyzes confirm the purity and physicochemical characterizations of chitosan. The manufacture of chitosan contributes to the improvement of nature conservation.

**Key words:** Chitosan, Optimization, Experimental design, The optimal condition

## المُلخَص:

الشيتوزان هو مادة قابلة للتحلل من أصل طبيعي يتم الحصول عليها من نفايات المنتجات الثانوية من الروبيان من خلال عملية كيميائية تنطوي على نزع المعادن وإزالة البروتين ونزع الصمغ. اشتملت الدراسة الحالية على تحسين وتقييم شروط إنتاج وتوصيف الشيتوزان. ركزت التجارب على تأثيرات تفاعلات خمسة عوامل. يتم تحقيق نتائجنا على دراسة المقالات في نفس السياق. بناء على تجميع نتائج المقالة ، خلُص إلى أن: القيم المثلى التي تم الحصول عليها تجريبياً للتنقية المعدنية بتركيز HCL (1.1N) ، بنسبة (1:20 /جم: مل)، من درجة حرارة التحريك (50 درجة) خلال (3 ساعات). تعتبر طريقة Kjeldhal هي الأفضل لتحديد مستوى البروتين بتركيز 2.5 NAOH في درجة حرارة (75 درجة) لـ (6 ساعات) بنسبة (1:20). أعلى قيمة 90% DD تحت ظروف محسنة (40%) هيدروكسيد الصوديوم عند (121 درجة مئوية) لمدة (3 ساعات) في الأوتوكلاف بنسبة صلابة -سائلة (1: 20 / جم: مل). تؤكد التحليلات النوعية النقاوة والخصائص الفيزيائية الكيميائية للشيتوزان. يساهم تصنيع الشيتوزان في الحفاظ على الطبيعة.

**الكلمات المفتاحية:** الشيتوزان، التحسين، التصميم التجريبي، الحالة المثلى.

# SOMMAIRE

LISTE DES ABRIVIATION .....	I
LISTE DES FIGURES .....	II
LISTE DES TABLEAUX .....	III

## PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

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

## CHAPITRE I : GENERALITES SUR LA CHITINE ET LE CHITOSANE

I.HISTORIQUE .....	3
1.1. Définition de la chitine .....	4
1.2. Structure chimique de la chitine.....	4
1.3. Source de la chitine.....	4
2.1. Définition du chitosane .....	7
2.2. Structure chimique du chitosane .....	7
2.3. Production de la chitine et du chitosane .....	8
2.3.1 Par voie chimique :.....	8
✓ La Déminéralisation.....	8
✓ La Déprotéinisation.....	9
✓ La désacétylation.....	9
2.3.2. Par vois biologique.....	9
2.4. Les applications du chitosane .....	11
2.4.1. Agriculture.....	12
2.4.2. Génie biomédical .....	13
2.4.3. Cosmétique et articles de toilette.....	13
2.4.4. Industrie alimentaire .....	14
2.4.5. Pharmacie.....	14
2.4.6. Photographie.....	15
2.4.7. Domaine du traitement de l'eau .....	15
2.5. Les principales propriétés du chitosane .....	18
2.5.1. Propriété biologique .....	18
2.5.1.1. Biodégradabilité .....	18

2.5.1.2. Biocompatibilité .....	18
2.5.1.3. Activité antioxydante .....	18
2.5.1.4. La mucoadhésion .....	19
2.5.1.5. Activité antimicrobienne et antifongique .....	19
2.5.2. Propriété physicochimique .....	19
2.5.2.1. Le poids moléculaire .....	19
2.5.2.2. Le degré de désacétylation .....	20
2.5.2.3. La solubilité.....	20
2.5.2.4. La viscosité .....	21
2.5.2.5. La cristallinité .....	22

## **CHAPITRE II : LES PLANS D'EXPERIENCES**

Introduction .....	23
1. Historique .....	24
2. Définitions .....	25
2.1. Expérimentation .....	25
2.2. Expérience .....	25
2.3. Plans d'expériences .....	25
2.4. Un schéma d'expériences .....	25
3. Les objectifs et l'intérêt d'un plan d'expériences .....	25
4. Terminologies .....	26
5. La méthodologie pour élaborer un plan d'expériences .....	27
6. Sélection un modèle et les expériences .....	27
7. Types des plans d'expériences .....	28
7.1. Plan factoriel .....	28
7.2. Plan factoriel fractionnaires.....	28
7.3. Plan factoriel complets .....	29
7.4. Les tables de Taguchi.....	29
7.5. Plan de Plackett et Burmann.....	29
7.6. Les plans de Koshal.....	30
7.7. Les plans de Rechtschaffner .....	30
7.8. Plan sursaturé .....	30

## **DEUXIEME PARTIE : PARTIE EXPERIMENTALE**

I. MATERIEL ET METHODE .....	31
1. Objectif d'étude .....	31
2. Matériels d'expérimentation .....	31
2.1. Solution et produits utilisé .....	31
2.2. Appareillages .....	31
3. METHODE D'ETUDE .....	31
3.1. Production de la chitine et du chitosane .....	31
3.1.1. Prétraitement des carapaces de crevettes.....	31
3.1.2. Le broyage des carapaces .....	32
3.1.3. Obtention de chitosane.....	32
4. Protocole d'optimisation .....	34
4.1. Plan d'optimisation de la déminéralisation .....	34
4.2. Plan d'optimisation de la déprotéinisation .....	35
4.3. Plan d'optimisation de la désacétylation .....	36
5. Mesure des paramètres physicochimiques .....	37
5.1. Détermination de taux de cendres avant et après la déminéralisation .....	37
5.1.1. Mode opératoire .....	37
5.2. Détermination de taux de protéines avant et après la déprotéinisation .....	38
5.2.1. Méthode de Kjeldhal.....	38
5.3. Détermination de degré d'acétylation(DA) avant et après la désacétylation...	41
5.3.1. Spectroscopie infrarouge .....	41
5.3.2. Mode opératoire.....	41
6. Solubilisation du chitosane .....	41
7. Viscosité .....	42
8. Diffraction des rayons X .....	42

## **II. SYNTHESE DES RESULTATS ET DISCUSSIONS : ETUDE SUR ARTICLES**

1. Caractérisation visuelle de la chitine et du chitosane .....	43
2. L'Optimisation de la déminéralisation .....	43
3. L'optimisation de la déprotéinisation .....	46
4. L'optimisation de la désacétylation .....	50
5. La solubilisation du chitosane .....	53
6. Analyse spectre FTIR .....	54

7. Analyse par rayon X .....	55
<b>CONCLUSION GENERALE</b> .....	57
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	

## **LISTE DES ABREVIATIONS:**

**AOAC:** The association of official analytical chemists

**CO<sub>2</sub>:** Dioxyde de Carbone

**CH<sub>4</sub>:** Gaz méthane

**DA:** Degré d'acétylation

**DD :** Degré désacétylation

**DP :** Degré de polymérisation

**GIcNAc :** N-acétyle-D glucosamine

**FTIR :** La spectroscopie infrarouge a transformée de Fourier.

**H :** Heure

**HCl :** Acide chlorhydrique

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> :** Peroxyde d'hydrogène

**IR :** Infra rouge

**KOH :** Hydroxyde de potassium

**MW :** Le poids moléculaire

**MALLS :** Lumière laser statique multi-angle

**NaOH :** Hydroxyde de sodium

**PH :** Potentiel hydrogène

**PBD :** Plackett-Burman

**P° :** Pression

**RMN :** Résonance Magnétique Nucléaire

**SEC :** La chromatographie d'exclusion stérique

**T° :** Température

**UIPAC:** International union of pure and applied chemistry.

**UV :** Ultra-violet

## LISTE DES FIGURES :

<b>Figure 01</b> : Structure moléculaire de la chitine. ....	4
<b>Figure 02</b> : Source de la chitine .....	5
<b>Figure 03</b> : Formule chimique du chitosane.....	7
<b>Figure 04</b> : L'extraction de la chitine par voie chimique et biologique.....	10
<b>Figure 05</b> : Les carapaces de crevettes(1) nettoyées (2) et séchées(3).....	32
<b>Figure 06</b> : Les étapes d'extraction de la chitine et du chitosane .....	33
<b>Figure 07</b> : Minéralisation de l'échantillon.....	39
<b>Figure 08</b> : Distillation de l'échantillon.....	39
<b>Figure 09</b> : Principe de titrage (A) avant (B) après.....	40
<b>Figure 10</b> : Caractéristique visuelle de la chitine et du chitosane.....	43
<b>Figure 11</b> : (a) Effet de la concentration de HCl. (b) Effet des temps. (c) Effet du rapport solides/solvant sur l'étendue de la déminéralisation.....	45
<b>Figure 12</b> : Effet de concentration de NaOH, temps de réaction, température et rapport solide /liquide sur la déprotéinisation.....	47
<b>Figure 13</b> : Effet de concentration de NaOH sur le DD.....	50
<b>Figure 14</b> :Spectres FT-NIR du chitosane standard et du chitosane isolé à différentes	51
<b>Figure 15</b> : Le DD du chitosane extrait. Concentrations de NaOH.....	53
<b>Figure 16</b> : FTIR du chitosane préparé.....	55
<b>Figure 17</b> : Spectre de diffraction de rayon X de chitosane.....	56

## LISTE DES TABLEAUX:

<b>Tableau 01</b> :Les principes sources du chitine .....	6
<b>Tableau 02</b> : Présente des exemples de sources contenant de la chitine, ainsi que les compositions disponibles données.....	6
<b>Tableau 03</b> : La différence entre l'extraction chimique et biologique de la chitine et du chitosane.....	11
<b>Tableau 04</b> :Les principaux domaines de chitosane et leurs applications.....	16
<b>Tableau 05</b> : Relation entre les paramètres structuraux et les propriétés du chitosane..	21
<b>Tableau 06</b> : Différents type des plans expérimentaux .....	28
<b>Tableau 07</b> : Plan déminéralisation .....	35
<b>Tableau 08</b> : plan déprotéinisation .....	36
<b>Tableau 09</b> : Plan désacétylation.....	37
<b>Tableau 10</b> : Le taux de minéraux par rapport le temps de réaction et concentration d'HCl.....	44
<b>Tableau 11</b> : Les différents paramètres de la déminéralisations.....	45
<b>Tableau 12</b> : Les différents paramètres de la déprotéinisation.....	48
<b>Tableau 13</b> :Les paramètres de déprotéinisation.....	49
<b>Tableau 14</b> : Conception expérimentale sur l'étape de désacétylation.....	52

# **INTRODUCTION GENERALE**

**Introduction :**

Le développement rapide de l'industrie moderne, induit certainement à des contaminations graves de l'environnement tel que les rejets polluants qui restent un problème sérieux dans plusieurs pays du monde. L'Algérie a mené plusieurs actions et programmes pour promouvoir la diversification économique en prenant en charge les problématiques liées à la vulgarisation des technologies propres, dans une totale synergie avec les départements ministériels en charge du volet développement durable, et chantiers visent à la prévention de dégradation de l'environnement et à la promotion de toute action de récupération, de recyclage et de valorisation des déchets des produits industriels (**Tamazirt, 2019**).

Les résidus ou coproduits tels que les carapaces, la tête et la peau des crustacées restent l'un des défis les plus importants auxquels les pays sont confrontés aujourd'hui en raison des risques qu'ils posent pour la santé humaine et l'environnement.

Ces déchets marins collectent des chats et des insectes qui transmettent des toxines et des maladies aux humains en plus des odeurs désagréables qui polluent l'atmosphère avec les gaz qui en sont libérés, ce qui entraîne une pollution chimique qui vient s'ajouter aux gaz toxiques CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> qui contribuent fortement aux risques du changement climatique (**Gerin et al., 2015**).

Afin de contrecarrer aux problèmes de l'environnement de nouvelles démarches sont entreprises : la valorisation des biopolymères. La chitine et son principal dérivé le chitosane, connaissent un engouement très important. En effet, le chitosane qui peut être utilisé sous différentes formes physiques, présente un potentiel d'applications considérable.

Notre étude vise à trouver des conditions optimales pour affirmer avec un risque d'erreur raisonnable les meilleures conditions pour l'extraction du chitosane, qui pourront donner du chitosane de qualité supérieure avec des caractéristiques physico-chimiques meilleures telles que le degré de désacétylation, la solubilité, la cristallinité, suite aux procédés de déminéralisation, déprotéinisation et désacétylation.

Plusieurs facteurs essentiels affectent le rendement d'extraction du chitosane comme la concentration en NaOH, HCL, la température et le temps le rapport S/L le diamètre des particules influent sur le degré de désacétylation.

En conséquence, la méthodologie des plans d'expériences, est une approche statistique d'analyse, utilisée dans cette étude pour décrire adéquatement l'effet de plusieurs facteurs de limitation ainsi que leurs interactions.

Dans cette optique, notre travail sera structuré comme suit :

- La partie bibliographique comportant deux chapitres : le premier sur la chitine et chitosane et le deuxième chapitre sur les plans d'expériences pour l'optimisation de chitosane.

-La partie expérimentale présentant les méthodes appliquées et synthèse des résultats obtenus pour l'optimisation de l'extraction de chitosane par étude sur articles s'inscrivant dans le même contexte.

-La présente étude est finalisée par une conclusion générale et les perspectives qui s'imposent.

**CHAPITRE I :**  
**Généralité sur la**  
**chitine et le**  
**chitosane**

**Historique :**

En 1799, Hatchett décalcifiait les carapaces de crabes, de homards, de crevettes et de langoustines avec des acides minéraux, en observant qu'elles produisaient d'une effervescence modérée et en peu de temps se sont révélées souples et plastiques d'une couleur jaunâtre et comme un cartilage, qui a conservé la figure originale. Bien que ce soit la première mention de la chitine calcifiée chez les invertébrés.

La découverte de la chitine est généralement attribuée à la fois à Braconnot Henri directeur du jardin botanique de Nancy en 1811 qui a découvert la chitine à partir de champignons et à Odier en 1823 qui a obtenu une matière cornée après traitement des élytres de hannetons avec de l'hydroxyde de potassium. La chitine a d'abord été nommée fongine par Braconnot puis chitine par Odier. L'histoire du chitosane, principal dérivé de la chitine, remonte à 1859 avec les travaux de Rouget. Le nom de chitosane a cependant été introduit en 1894 par Hoppe-Seyler. En 1876, Le dehors hydrolyse la chitine des arthropodes et découvre la glucosamine, le premier dérivé de la chitine.

L'historique de développement de la chitine divisé en cinq périodes : découverte en 1799 à 1894, une période de confusion et de controverse de 1894 à 1930, l'exploration en 1930-1950, une période de doute de 1950 à 1970, et finalement la période d'application à partir de 1970. **(Crini, 2019)**.

En 1940 les chercheurs ont découverts les avantages et les intérêts de la chitine et du chitosane dans différents domaines comme le domaine médical et dans le traitement des eaux. **(Kumar, 2000)**

La production annuelle de chitine dans la nature est estimée à quelques milliers de tonnes et son exploitation commerciale reste limitée par rapport à la cellulose. **(Peter, 2002)**.

Actuellement, la production de la chitine et du chitosane à partir des carapaces de crabes et de crevettes, est économiquement rentable, sont des sources renouvelables que l'on peut trouver en abondance dans la nature. Ce fait a attiré plus d'intérêt pour le développement durable. Ils sont donc biodégradables et bio résorbables. Ces deux propriétés sont primordiales à notre époque où la protection de l'environnement joue un rôle important. **(Akouche, 2014)**.

## I. La Chitine :

### 1.1. Définition de la chitine :

Chitine, est un homopolymère de N-acétyl-D glucosamine lié à la  $\beta$ -(1  $\rightarrow$  4), est l'une des plus abondantes, facile à obtenir, et des polymères naturels renouvelables, en deuxième position après la cellulose. Ces chitines ont la propriété a-cristallographique structure où les principales chaînes s'organisent dans une forte liaison hydrogène intermoléculaire. (Tolaimate et al., 2000).

Mais ce polymère n'est pas soluble dans les solvants usuels et pour son utilisation, le produit chimique des modifications sont effectuées. Les modifications les plus courantes, le dérivé préparé est le chitosane (Tolaimate et al., 2003).

### 1.2. Structure chimique :

La chitine se trouve fortement associée à un polysaccharide constitué de molécules de D-glucose, appelé  $\beta$ -glucan. Les polymères de chitine-glucan et de chitine sont insolubles dans beaucoup de solvants, mais ils sont capables de gonfler dans des milieux aqueux. Ils sont biodégradables en présence de certaines enzymes. (Bornet et Teissedre, 2005).

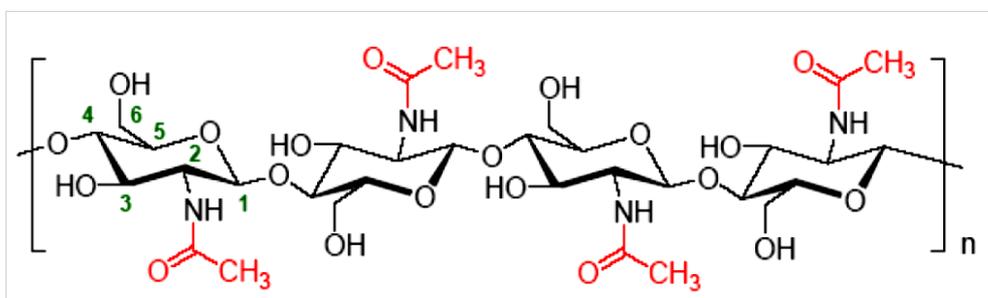


Figure 01 : Structure moléculaire de la chitine. (Arannaz et al., 2009)

### 1.3. Source de la chitine :

Pendant plus d'un siècle, les scientifiques ont rapporté que la chitine était présente dans divers organismes. Au départ, les zoologistes ont nommé toutes les structures dures jaune-brunâtre chitine, sans l'analyse chimique, générant parfois des données trompeuses. De nos jours, on estime qu'une grande partie de la chitine produite dans la biosphère est présente dans les océans. On le trouve dans les espèces aquatiques appartenant aux phylatels que Cnidaria, Entoprocta, Phoronida, Ectoprocta, Brachiopoda, Bryozoa, Porifera, et Mollusca seiches.

En outre, la chitine a également été détectée dans des champignons, des algues, Onychophora (vers de velours) et protozoaires. Cependant, les sources de chitine les plus facilement accessibles sont les exosquelettes d'Arthropoda, qui comprend les insectes, les arachnides, les myriapodes, ainsi que les crustacés. (Bastiaens et al., 2020)

Bien que la chitine soit largement distribuée dans la nature. (Figure 02), (Tableau 01).

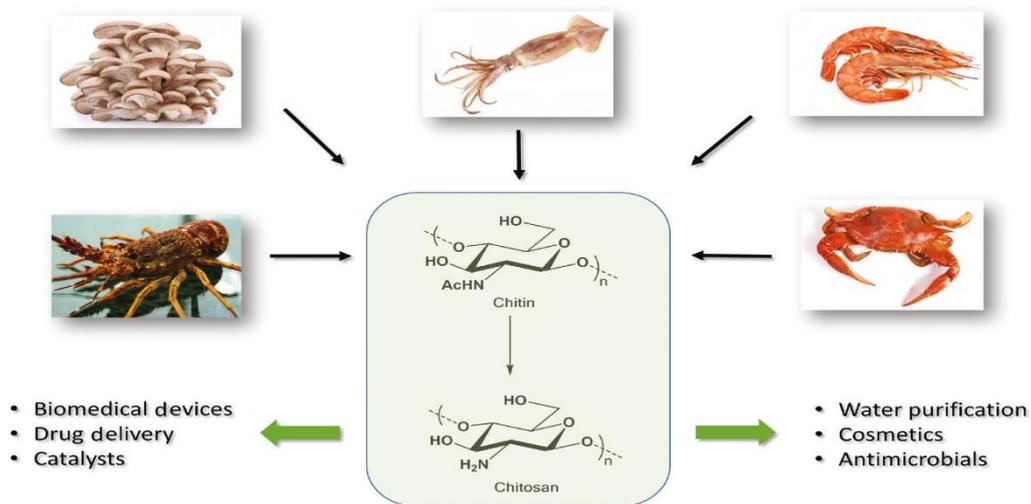


Figure 02 : Source de chitine. (Jardin et Sayed, 2017)

D'un point de vue pratique, les coquilles des crustacés marins tels que les crabes et les crevettes sont plus pratiques ; Ils sont les déchets disponibles de l'industrie de transformation des produits de la mer et utilisé pour la production commerciale de chitine. (Kurita, 2006).

**Tableau 01** : Les estimations approximatives de la chitine dans les principales sources :  
(Kurita, 2006), (Tolaimateetal, 2003), (Rinaudo, 2006)

Sources de chitine	Teneur en chitine %
Cuticule de crabe ( <i>Grapsusmarmoratus</i> ) ( <i>Portunuspuber</i> ) ( <i>Maia squinada</i> )	15-30
Cuticule de crevette ( <i>Palaemonfabricius</i> )	30-40
Langouste ( <i>Palinurusvulgaris</i> )	32
Cuticule de krill ( <i>Euphausiacea</i> )	20-30
Squilla( <i>Squillamantis</i> )	20-40
Calmar ( <i>Loligovulgaris</i> )	40
Coquille de palourde / d'hûître	3-6
Barnacle( <i>Lepasanatifera</i> )	07
Écrevisses ( <i>Astacusfluviatilis</i> )	36
Seiche ( <i>Sepiaofficinalis</i> )	20
Cuticule d'insecte	5-25
Paroi cellulaire des champignons ( <i>Mucor rouxii</i> ) ( <i>Aspergillus niger</i> ) ( <i>Aspergillus phoenisis</i> )	10-25

**Le tableau 02** : Présente des exemples de sources contenant de la chitine, ainsi que les compositions disponibles données.(Bastiaens et al., 2020) (El Knidri et al., 2018)

Sources	Teneur en minéraux	Teneur en protéines
Crabe	66.58	16.68
Crevette rose	42.26	34.02
Homard scyllaride	61.81	16.93
Langouste	63.94	15.56
Seiches	91.25	1.35
Coquilles de moules	23,25	9,99
Calmar gladiés	2.57	36.52
Cuticules d'insectes	11.7	39.8

## II. Le chitosane :

### 2.1. Définition du chitosane :

Le chitosane peut être obtenu par N-désacétylation de la chitine et est un copolymère de glucosamine et du motif N-acétylglucosamine lié par 1-4 glucostatique. Le chitosane est une fibre comme la cellulose, mais contrairement aux fibres végétales, il possède des propriétés uniques, notamment la capacité de former des films, des structures optiques caractéristiques, et bien plus encore. (Youcefi et Riazi, 2012).

### 2.2. Structure chimique du chitosane:

Le chitosane, un dérivé désacétylé de la chitine, la transformation de la chitine d'origine animale en chitosane est basée sur l'hydrolyse des liaisons amides des groupes N-acétylglucosamine dans un milieu très basique. (Bornet et Teissedre, 2005).

Le chitosane est un polysaccharide linéaire comprenant des unités de D-glucosamine désacétylées et acétylées liées par des liaisons glycosidiques  $\beta(1,4)$ . Un tel polymère est obtenu par désacétylation de la chitine, où les ions acétate et un groupe  $-NH_2$  sont produits par hydrolyse du groupe acétamide. Rapport de la glucosamine et du N-acétyl. La glucosamine définit généralement le degré de désacétylation du chitosane. N-acétyl glucosamine plus élevée que la glucosamine se trouve dans la chitine, tandis que le pourcentage de glucosamine est plus élevé que celui de la N-acétylglucosamine dans le chitosane. Le degré de désacétylation influe sur les deux propriétés chimiques (résistance à la traction, solubilité, surface, viscosité, conductivité, porosité et flexibilité) et biologique (activateur d'adsorption, biodégradabilité, antioxydant, biodisponibilité et biocompatibilité) en fonction des conditions du processus.(Yadav et al., 2019)

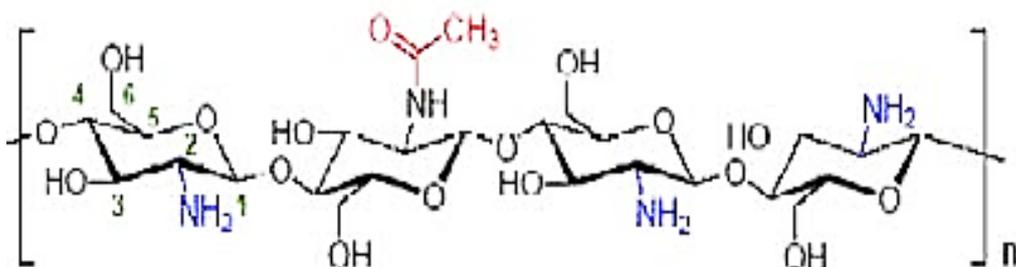


Figure 03 : Formule chimique de la chitosane. (Arannaz et al., 2009).

## 2.3. Production de la chitine et du chitosane :

Habituellement, la chitine et le chitosane sont obtenus par deux procédés d'extraction chimiques et biologiques. Les méthodes chimiques impliquent l'utilisation d'acides et de bases fortes pour dissoudre les carbonates de calcium et protéines (**El Knidri et al., 2018**). Les méthodes biologiques d'extraction réussissent à maîtriser les conditions spécifiques qui peuvent être contrôlées. (**Tyliszczak et al., 2020**).

### 2.3.1. Par voie chimique :

- **La Déminéralisation :**

La déminéralisation est généralement effectuée par traitement acide comprenant HCl, HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, CH<sub>3</sub>COOH et HCOOH ; Cependant, le HCl semble être le réactif préféré. (**Arabia et al., 2013**)

Plusieurs publications scientifiques ont décrit des études détaillées de la chitine et l'extraction du chitosane. La déminéralisation est effectuée dans une solution de HCl 0,25 M à température ambiante avec un rapport solide - liquide de (1 :40 / g : ml) pendant (15–180 min). (**Al Sagheer et al., 2009**).

L'extraction de la β-chitine et du chitosane utilisant 1,5 M de solution de HCl pendant 2h jusqu'à 8 h à 50 ° C. (**Abdelmalek et al., 2017**)

**Yong et al., 2018** Décrire que l'extraction de chitine utilisant 1,0 M de solution d'acide chlorhydrique à 35° C pendant 30 min comme première étape.

La déminéralisation est facile à réaliser car elle implique la décomposition du carbonate de calcium en sels de calcium solubles dans l'eau avec libération de dioxyde de carbone comme le montre l'équation suivante est souvent accompagné de la formation des mousses indésirables : (**Younes et Rinaudo, 2015**)



La concentration de l'acide et la durée du traitement dépend de la source, mais les traitements à des températures plus élevées, entraînant la dégradation du polymère. (**Marinela et al., 2018**).

- **La Déprotéinisation :**

Dans cette étape, les protéines liées à la chitine (Chitinoprotéines) sont éliminées par hydrolyse basique en utilisant des agents parmi lesquels : le Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, KOH, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Ca(OH)<sub>2</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, NaHSO<sub>3</sub>, Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> et Na<sub>2</sub>S (**Badaoui, 2012**). Une solution aqueuse diluée de NaOH à une température assez élevée (entre 65°C et 100°C) peut être effectuée pour éliminer les protéines. (**Aljawish, 2013**).

(**Al Sagheer et al., 2009**). Montre que La déprotéinisation de la chitine est effectuée avec une solution de NaOH 1M avec un rapport solide – liquide (1 :20 /g : ml) à 70° C, pendant une nuit.

En effet une étude réalisé par (**EL Knidri et al., 2016**)montré que la déprotéinisation est effectuée avec un traitement alcalin de solution d'hydroxyde de sodium à 10%à température de 80 ° C pendant 2 h avec un rapport solide – liquide ( 1 : 10 /g : ml) pour éliminer les protéines.

- **La désacétylation :**

Cette étape consiste à enlever suffisamment de groupes acétyle (CH<sub>3</sub>-CO<sub>3</sub>) de la chitine et libère les groupements amines (NH) et confère au chitosane un caractère cationique (**Benabbou, 2009**) réalisée par hydrolyse des groupes acétamides en milieu fortement alcalin, à haute température. Généralement, la réaction est conduite dans une phase hétérogène en utilisant des solutions concentrées de NaOH ou KOH (40-60%) à des températures au-delà de 80°C pendant au moins 10h. (**kurita, 2006**)

L'élimination des groupes acétyle de la chitine réalisée par une solution de NaOH à 70%avec un rapport solide – liquide (1:14 / g : ml) à température ambiante pendant 72h. (**Kumar, 2017**).

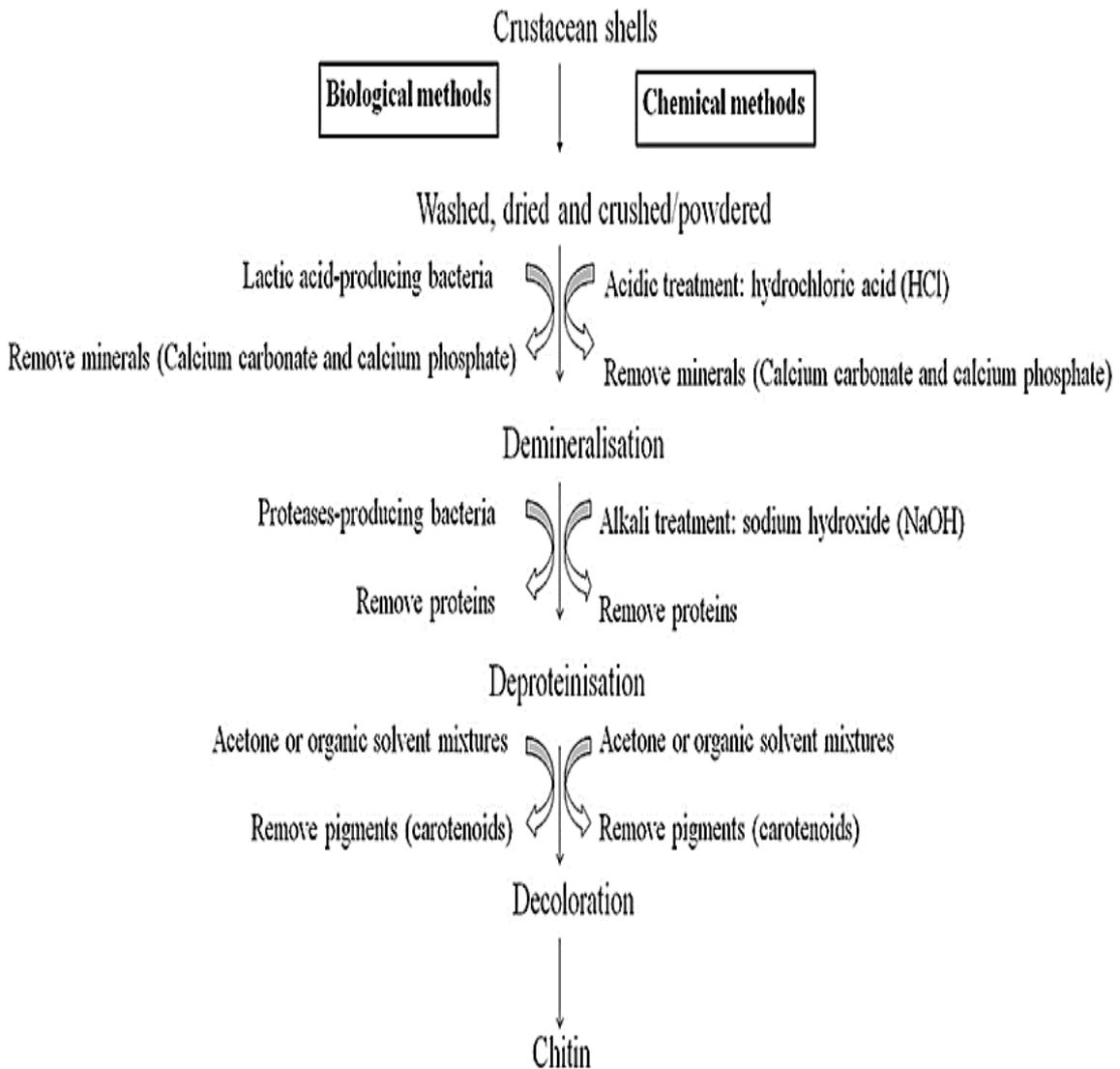
**Carla et al., 2019** montrée que le traitement de désacétylation consistait à utiliser une solution à 40% de NaOH avec un rapport solide – liquide (1:15/ g : ml). Le temps de contact était de 2 h sous agitation (1 h à température ambiante et 1 h à100° C).

### 2.3.2. Par vois biologique:

Des processus de déprotéinisation, déminéralisation et désacétylation signalés pour la production de chitine par des processus mécaniques enzymatiques et microbiens.

Comme mentionné par (Sedaghat et al., 2017) la fermentation microbienne peut être considérée comme une méthode favorable pour la préparation de la chitine, mais, plusieurs paramètres peuvent influencer l'efficacité de cette fermentation.

En particulier, la concentration de glucose et de carbone, le pH initial, le pH pendant la culture, la quantité d'inoculation, le temps de fermentation et la température, ce qui rend cette méthode plus complexe que les méthodes chimiques.



**Figure 04** : L'extraction de la chitine par voie chimique et biologique. (Hamed et al., 2015)

**Tableau 03:** La différence entre l'extraction chimique et biologique de la chitine et du chitosane. (El kinidri, 2018)

<b>Extraction</b>	<b>Traitement</b>	<b>Avantage</b>	<b>Inconvenant</b>
<b>Chimique</b>	Déminéralisation: par traitement acide avec HCl, HNO <sub>3</sub> , H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ..... Déprotéinisation: par traitement alcalin à l'aide de NaOH ou KOH. Désacétylation : par traitement alcalin avec un fort NaOH ou KOH.	Temps de traitement court. DD% élevé du produit final. Utilisé à l'échelle industrielle. Élimination complète des sels organiques.	Respectueux de l'environnement. Les minéraux et protéines solubilisés ne peuvent pas être utilisés comme nutriments humains et animaux.
<b>Biologique</b>	Déminéralisation: utilisation d'un traitement à l'acide lactique produit par les bactéries. Déprotéinisation: par les protéases sécrétées dans le milieu de fermentation. Désacétylation : chitine désacétylase produite par des bactéries.	Haute qualité du produit final. Sans danger pour l'environnement. Les minéraux et protéines retirés peuvent être utilisés comme nutriments humains et animaux.	Long temps de traitement (plusieurs jours). Limité aux études à l'échelle du laboratoire.

#### **2.4. Les applications de chitosane :**

Le chitosane est le biopolymère qui a reçu de nombreux intérêts de recherche en raison de leur nombreuses applications potentielles dans l'agriculture, l'alimentation l'industrie, la biomédecine, la fabrication du papier et l'industrie textile. (Youcefi et Riazi, 2012).

#### **2.4.1. Agriculture :**

La production agricole continue d'être mise à mal par un grand nombre d'insectes nuisibles, de maladies et de mauvaises herbes, Pour gérer ces pertes et améliorer la productivité, les agriculteurs font un usage excessif et aveugle des produits agrochimiques, ce qui entraîne une détérioration de la santé des sols, la dégradation des agroécosystèmes, des problèmes de résidus, la pollution de l'environnement et la résistance aux pesticides des insectes et des agents pathogènes.

Le chitosane est apparu comme l'un des polymères les plus prometteurs pour l'apport efficace de produits agrochimiques et de micronutriments dans les nanoparticules. Les nanoparticules de chitosane ont étudiées en tant que support pour l'administration d'ingrédients actifs pour diverses applications en raison de leur biocompatibilité, biodégradabilité ce qui donne des résidus non toxiques dont la vitesse de dégradation correspond à la masse moléculaire et au degré de désacétylation., haute perméabilité, rentabilité, non-toxicité et excellente capacité à former un film.

Le chitosane est également connu pour ses activités antimicrobiennes et insecticides à large spectre. De plus, Il est capable de chélates divers composés organiques et inorganiques, ce qui le rend bien adapté pour améliorer la stabilité, la solubilité et l'activité biocide des fongicides ou autres pesticides chélates.

L'étude du chitosane est passée d'un agent général de traitement des eaux usées à un régulateur de croissance des plantes, un conditionneur de sol, un agent anti-végétal pour les fruits et légumes et un agent d'enrobage des semences.

Un éliciteur efficace de la résistance systémique acquise des plantes aux agents pathogènes. Ce polymère est considéré comme un activateur et un régulateur de la croissance, du développement et du rendement des plantes.

Le chitosane induit des défenses végétales dans la tomate, le concombre, les graines de piment, les fraises et les rosiers. En plus peut activer l'immunité innée en stimulant la production de (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) dans le riz, induire une réponse de défense par les voies de l'oxyde nitrique (NO) dans le tabac, favorisent le développement et la résistance à la sécheresse du café, provoquent des changements dans la phosphorylation des protéines, activent les protéines kinases activées par les mitogènes.

En outre, plus importantes bioactivités du chitosane sur les plantes est la stimulation de la germination des graines en réponse au stress abiotique.

Dans l'arachide, les graines enrobées de chitosane augmentent l'énergie de germination et le pourcentage de germination. L'avantage majeur était la protection contre les insectes. **(Kashyap et al., 2015)**

#### **2.4.2. Génie biomédical :**

La chitine et le chitosane existent sous différentes formes appliquées (hydrogels, membranes, nanofibres, perles, micro/nanoparticules, échafaudages et éponges) et sont utilisés dans de nombreux types d'applications biomédicales telles que la cicatrisation, l'ingénierie tissulaire et la fabrication de lentilles pour l'ophtalmologie. **(Hamed et al., 2015)**. Le chitosane et ses dérivés ont été largement utilisés comme matériaux antibactériens non toxiques ou de faible toxicité. Parmi eux, le sel d'ammonium quaternaire du chitosane est le plus utilisé. Le chitosane a une activité antibactérienne nettement accrue et peut être utilisé dans les médicaments anti-inflammatoires ou comme fibre de remplissage dans les matériaux de pansement des blessures. **(Wang et al., 2020)**

#### **2.4.3. Cosmétique et articles de toilette :**

Le chitosane et leurs dérivés ont des qualités immatérielles liées aux propriétés anti-âge, inhibiteur de la métalloprotéinase matricielle (MMP), des agents hydratants, antioxydant et antifongique.

L'utilisation de la chitine et de chitosane a été suggérée dans les domaines : des produits de nettoyage de la peau, de la bouche, des ongles, des composés de protection contre les ultraviolets, et des cheveux pour obtenir des formulations capables de traiter les maladies liées aux dents, aux cheveux interaction électrostatique (avec les cheveux chargés négativement), hydrophobie (élimination des huiles et du sébum des cheveux), aux ongles, et des facteurs stimulants des fonctions essentielles de la peau telles que la protection, l'absorption, la régulation thermique, la défense, la réserve et la synthèse.

Un dérivé semi-synthétique du chitosane, s'est révélé être un candidat valable pour l'administration de produits actifs aux ongles, agissant comme un film protecteur qui préserve la structure de l'ongle, protégeant la kératine, maintien de l'hydratation avec diminution des signes de dystrophie des ongles psoriasiques.

En ce qui concerne les maladies liées à la gingivite, la gingivite (augmentation de l'épaisseur de la gencive libre) et la parodontite (infection des tissus de soutien des dents entraînant une perte de l'attache gingivale) sont souvent fréquentes. Le chitosane et ses

dérivés sont utilisés dans le traitement des problèmes buccaux par la formulation de gels, dentifrices, sprays, chewing-gums, bains de bouche et microsphères, pour prévenir des maladies telles que la mucosité buccale, la formation de plaque, les problèmes parodontaux et le contrôle de la croissance bactérienne. (**Casadidio et al., 2019**).

#### **2.4.4. Industrie alimentaire :**

Les applications du chitosane et de ses oligosaccharides dans l'industrie alimentaire. Le chitosane a été approuvé comme additif alimentaire à la sauge, fibre diététique (effet hypocholestérolémie) et ingrédients fonctionnels pour le consommateur. Le chitosane est également approuvé comme additif alimentaire en Japon et Corée depuis les années 1990. En raison de sa nature bioactive et de sa cationique. Le chitosane est utilisé comme ingrédient nutritionnel (additifs alimentaires, aliments fonctionnels), antimicrobien et agent antioxydant (protection des aliments), pour les revêtements antimicrobiens des fruits et légumes, dans les produits alimentaires anticholestérolémiques et comme nutraceutiques.

Les activités antimicrobiennes du chitosane en solution, en poudre, et des films comestibles et un revêtement contre les microorganismes. De meilleurs résultats ont été obtenus avec le chitosane de faible poids moléculaire. Peuvent être appliqués comme agent antimicrobien contre les micro-organismes alimentaires. Le chitosane et ses dérivés d'un large éventail d'applications uniques dans l'industrie alimentaire, y compris la conservation des aliments provenant détérioration microbienne, prolongation de la durée de conservation, formation les films biodégradables, et les emballages alimentaires. Le produit utilisé comme matériau d'emballage ou de revêtement (**Morin-Crini et al., 2019**).

#### **2.4.5. Pharmacie :**

Pour l'administration des ingrédients pharmaceutiques, la chitine, le chitosane et leurs dérivés ont été utilisés. En raison de leur biocompatibilité, de leur biodégradabilité et de leur faible toxicité, ils sont des polymères de grande valeur qui peuvent encapsuler des actifs pharmaceutiques, les protéger contre la dégradation et permettre leur libération sur une période prolongée. Différents systèmes de support polymères tels que les nanoparticules, les matrices, les microsphères, les hydrogels, les capsules ou les micelles. La libération des agents actifs se produit généralement par diffusion à travers

le polymère, par dégradation du polymère ou par désorganisation de la structure supramoléculaire du système de diffusion.

La livraison de gènes et de médicaments a été réalisée au cours des dernières années. Le chitosane est l'un des polymères les plus couramment étudiés parmi les vecteurs non viraux pour la délivrance de gènes. Il est considéré comme un bon candidat pour la transfection de gènes en raison de l'interaction électrostatique entre le chitosane cationique et l'ADN chargé négativement. De nombreux vecteurs d'acides nucléiques pour la thérapie génique. Par exemple, les vecteurs viraux utilisés largement pour l'encapsulation des gènes.

Toutefois, Ces porteurs ont certains effets secondaires (oncogènes, immunogènes et cytotoxiques). En outre, l'enrobage des produits pharmaceutiques avec du chitosane et ses dérivés est utilisé pour assurer la libération contrôlée de nombreux médicaments (anticancéreux, antibiotiques, anti-inflammatoires, antidiabétiques et gastroagents intestinaux). Les ingrédients actifs sont plus efficaces avec une diminution des effets secondaires et libération progressive des principes actifs. **(Hamed et al., 2015)**.

#### **2.4.6. Photographie:**

Le chitosane aurait conféré une résistance à l'état humide au papier. L'hydroxyméthyl chitine et d'autres dérivés solubles dans l'eau sont des additifs finaux utiles dans la fabrication du papier. Ce polymère, bien que potentiellement disponible en grande quantité, n'est jamais devenu un produit commercialement important. L'entrepreneur en fabrication de papier peut utiliser ce polymère pour améliorer les propriétés du papier de finition. **(Kumar, 2000)**.

#### **2.4.7. Domaine du traitement de l'eau :**

L'eau est la substance la plus critique sur Terre ; toute contamination de l'eau peut avoir des conséquences néfastes pour l'ensemble des êtres vivants. Aujourd'hui, l'élimination de divers polluants de l'eau est l'une des préoccupations les plus importantes. L'extraction de chitosane a été évaluée pour l'élimination des métaux lourds comme vert du chrome d'eau **(Pourmortazavi et al., 2019)**. Le biopolymère dérivé de la chitine et du chitosane peut adsorber des ions de métaux lourds, des colorants et des molécules de protéines.

Les dérivés sont protonés. Le comportement de biosorption prononcé du chitosane pour le métal lourd L'hydrophile élevé du chitosane due aux groupes hydroxyles et à

l'élimination primaire des groupes amino à la surface en plus du rôle vital des interactions électrostatiques. En outre, une structure flexible de la chaîne polymère du chitosane permettant d'obtenir des supports de configuration appropriés phénomène de biosorption. (Sarode et al., 2018).

**Tableau04 : Les principaux domaines de chitosane et leurs applications :(Crini et Badot, 2008)**

<b>Domaine</b>	<b>Application</b>
<b>Agriculture</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Protection des plantes. -Augmentation des rendements des cultures (réduit la croissance de champignons phytopathogènes).</li> <li>-Enrobage de semences et d'engrais; traitement des sols.</li> </ul>
<b>Génie biomédical</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Activités biologiques (antifongiques, antimicrobien, anti-infectieux); Antimoral agent, effets hémostatiques; améliore le sang, coagulation.</li> <li>-Favorise la croissance des tissus; stimule la cellule, prolifération; peau artificielle.</li> <li>-Sutures / bandages.</li> <li>-Ophtalmologie, lentilles de contact.</li> </ul>
<b>Biotechnologie</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Immobilisation enzymatique et cellulaire.</li> <li>-Matériaux stimulant les cellules.</li> <li>-Matrice pour chromatographie d'affinité ou membranes.</li> </ul>
<b>Cosmétique et articles de toilette</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Spray capillaire, lotion; crèmes pour les mains et le corps, shampooing, hydratant.</li> </ul>
<b>Industrie alimentaire</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Aliments diététiques et fibres alimentaires ; activité hypocholestérolémique (lie cholestérol,</li> </ul>

	<p>acides gras et monoglycérides).</p> <ul style="list-style-type: none"><li>-Conservation des aliments contre les microbes détérioration.</li><li>-Bioconversion pour la production de valeur ajoutée produits alimentaires.</li><li>-Récupération des déchets issus de la transformation des aliments jetés.</li><li>-Clarification et désacidification des fruits jus et boissons.</li><li>-Agent émulsifiant; stabilisation des couleurs.</li><li>-Additif pour l'alimentation animale.</li></ul>
<b>Pharmacie</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>-Transporteurs de médicaments contrôlés.</li><li>-Microcapsules (formant des gels et des capsules Avec des polymères anioniques).</li><li>-Produits dermatologiques (traite l'acné).</li></ul>
<b>Photographie (papier)</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>-Résistance à l'abrasion.</li><li>-Capacité à former des films.</li></ul>

## 2.5. Les principales propriétés de chitosane :

### 2.5.1. Propriété biologique :

#### 2.5.1.1. Biodégradabilité :

La chitine et le chitosane sont absents des mammifères mais il peut être dégradé in vivo par plusieurs protéases (lysozyme, papaïne, pepsine...). Leur biodégradation conduit à la libération de oligosaccharides non toxiques de longueur variable pouvant être incorporé ensuite aux glycosaminoglycanes et aux glycoprotéines, aux voies métaboliques ou être excrété. La cinétique de dégradation semble être inversement liée au degré de cristallinité qui est contrôlé principalement par le degré de désacétylation. (Aranaz et al., 2009).

### 2.5.1.2. Biocompatibilité

La chitine et le chitosane présentent une très bonne compatibilité mais cette propriété dépend des caractéristiques de l'échantillon (source naturelle, méthode de préparation, Mw et DD). Le chitosane présente une cytocompatibilité in vitro plus élevée que chitine. La cytocompatibilité du chitosane a été démontrée in vitro avec les cellules myocardiques, endothéliales et épithéliales, les fibroblastes, hépatocytes, chondrocytes et kératinocytes. (Aranaz et al.,2009).

### 2.5.1.3. Activité antioxydante :

Ces antioxydants créent des risques potentiels pour la santé et leur utilisation a été restreinte dans certains pays. Ces dernières années, une plus grande attention a été accordée à l'étude de l'activité antioxydante du chitosane et de ses dérivés.

Il a été signalé que le chitosane et ses dérivés agissent comme antioxydants en récupérant les radicaux oxygène tels que hydroxyle, super oxyde, alkyle ainsi que les radicaux DPPH hautement stables testés in vitro. (Younes et Rinaudo, 2015).

Les tests in vitro ont mis en évidence que des pourcentages élevés de DD simultanément avec un faible Mw favorisent une action de balayage plus ancienne. (Casadidio et al., 2019)

### 2.5.1.4. La mucoadhésion :

Plusieurs facteurs affectent la mucoadhésion du chitosane, tels que variables physiologiques et propriétés physicochimiques de chitosane. Le mucus est composé d'une glycoprotéine appelée mucine, riche en charges négatives car sialique résidus acides. Dans l'estomac, le chitosane est chargé positivement en raison de l'environnement acide et, par conséquent, il peut interagir avec la mucine par des forces électrostatiques. Il a été constaté que lorsque le Mw de chitosane augmente, la pénétration dans la couche de mucine augmente également et donc la mucoadhésion est plus forte, et le DD plus élevé conduit à une augmentation de la densité de charge de la molécule et de l'adhésif les propriétés deviennent plus pertinentes. (Aranaz et al., 2009)

#### 2.5.1.4. Activité antimicrobienne et antifongique :

Cette propriété se caractérise avec la charge cationique de la membrane chitosane, le poids moléculaire. (Younes et Rinaudo, 2015)

\* La surface cellulaire de la membrane (phospholipides) d'une bactérie la plus chargée négativement interagit avec la couche polysaccharidique de chitosane qui est chargée positivement, dans des conditions acides. Leurs résultats ont montré une valeur élevée du coefficient de corrélation entre le chitosane adsorbé et l'efficacité d'inhibition.

\*Le poids moléculaire MW : Le chitosane (en particulier les particules à faible MW) pourrait pénétrer la paroi cellulaire des bactéries, se combiner avec l'ADN et inhiber la synthèse de l'ARNm et la transcription de l'ADN. Le chitosane à haut MW pourrait interagir avec la surface cellulaire et par conséquent altérer la perméabilité cellulaire, ou former une couche imperméable autour de la cellule, bloquant ainsi le transport de solutés essentiels dans la cellule. (Younes et Rinaudo, 2015).

En plus d'une faible MW, un niveau élevé de DD augmente l'activité antibactérienne du chitosane avec une amélioration de la perméabilisation et une meilleure liaison électrostatique à la membrane bactérienne. (Casadidio et al., 2019)

#### 2.5.2. Propriété physicochimique :

##### 2.5.2.1. Le poids moléculaire :

MW de chitosane dépend du degré de polymérisation (DP), où les oligomères avec un DP sont solubles dans l'eau indépendamment des conditions de désacétylation telles que le temps, la température, la concentration d'hydroxyde de sodium et la valeur du pH. Le MW moyen en poids du chitosane est peut être déterminé par plusieurs méthodes, y compris : spectrophotométrie à diffusion de lumière, GPC et viscosimètre. Ces dernières années, la chromatographie d'exclusion stérique (SEC) a été une autre approche adoptée pour mieux déterminer le MW. SEC couplé à la diffusion de lumière laser statique multi-angle (MALLS) pour mieux améliorer la caractérisation du Mw de chitosane. (Casadidio et al., 2019)

##### 2.5.2.2. Le degré de désacétylation :

Le degré d'acétylation est le paramètre le plus important pour confirmer que le produit extrait est bien la chitine. Idéalement, la chitine est composée uniquement de GlcNAc, ce qui signifie que le DA est à 100%. (Taokaew et al., 2020). Le degré de désacétylation DD présente le taux de groupe acétylé par rapport au groupe non acétylé

et l'un des principales caractéristiques de chitosane, on l'a déterminé avec plusieurs techniques tel que : La spectroscopie IR, l'analyse élémentaire, la RMN solide ou liquide, dosage UV, titrage colloïdal, et titration potentiométrique. **(Boualem et Hocine, 2018)**

#### **2.5.2.3. La solubilité :**

La solubilité du chitosane est l'un des paramètres plus importants pour la qualité du chitosane, où une plus grande solubilité produira un meilleur chitosane. Il existe plusieurs facteurs critiques affectant la solubilité du chitosane, y compris la température et le temps de désacétylation, la concentration d'alcali, rapport de la chitine à la solution alcaline et taille des particules. **(Kumar, 2017)**

Le chitosane est insoluble dans l'eau neutre et sa solubilité est décantée avec des solutions acides telles que les solutions d'acide lactique, acétique (1% avec un pH proche de 4), glutamique, chlorhydrique (1% avec un pH jusqu'à 6,5), acide formique (0,2–100%), et de l'acide nitrique dilué. Le chitosane à forte DD et MW est facilement soluble dans l'eau sans l'utilisation de solutions acides **(Casadidio et al., 2019)**. La solubilité du chitosane dépend de la valeur de DD, de la force ionique, du pH de la nature de l'acide utilisée de la distribution des groupes acétyles le long de la chaîne macromoléculaire **(Rinaudo, 2006)**.

#### **2.5.2.4. La viscosité :**

La viscosité du chitosane dépend : de son degré d'acétylation : plus il est désacétylé, plus il y a de groupements amine libres, plus le chitosane est soluble, et plus sa viscosité est importante de sa concentration (elle augmente avec sa concentration), de la température (elle chute lorsque la température augmente), et le pH (plus il est bas plus la viscosité est élevée). **(Zemmouri, 2008)**.

#### **2.5.2.5. La cristallinité :**

Est un paramètre important car elle contrôle un certain nombre de propriétés comme l'accessibilité des sites internes dans les chaînes macromoléculaires, les propriétés de gonflement dans l'eau ou encore les propriétés diffusionnelles. La cristallinité est, en général, déterminée par des mesures de diffraction de rayons X. Le chitosane est généralement une substance semi-cristalline. Il cristallise dans le système orthorhombique et deux types de produits sont connus : le chitosane I (faible DD, sous

forme de sel) est plus désordonné que le chitosane II (fort DD, forme amine libre).  
(Aljawish, 2013)

**Tableau 05** : Relation entre les paramètres structuraux et les propriétés du chitosane  
(Hijazi, 2014) :

<b>Propriété</b>	<b>Caractéristique structurel</b>
Biodégradabilité	↑DD ↑MW
Biocompatibilité	↑DD ↓MW
Activité antioxydant	↑DD ↓MW
La mucoadhésion	↑DD ↑MW
Activité antimicrobienne et antifongique	↑DD ↓MW
La solubilité	↑DD ↑MW
La cristallinité	↑DD ↓MW

**CHAPITRE II :**  
**LES PLANS**  
**D'EXPERIENCES**

**Introduction :**

La méthode expérimentale en tant que méthode scientifique, repose toute entière sur la vérification expérimentale d'une hypothèse scientifique. Cette idée c'est comme une interprétation anticipée de la nature, plus ou moins probable, dont il déduit logiquement des conséquences qu'il confronte à chaque instant avec la réalité au moyen de l'expérience. La science cherche ainsi à se former une représentation toujours plus fine de ce que l'on appelle la réalité. La conception expérimentale et l'optimisation sont des outils utilisés pour examiner systématiquement différents types des problèmes qui surviennent, par exemple, la recherche, le développement et la production. Il est évident que si les expériences sont formées au hasard le résultat obtenu sera également aléatoire. Par conséquent, il est nécessaire de planifier les expériences de manière à obtenir les informations intéressantes.

Lorsque l'objectif est bien défini, le problème doit être analysé à l'aide des questions suivantes: Ce qui est connu? Qu'est-ce qui est inconnu? Sur quoi devons-nous enquêter? Pour pouvoir planifier les expériences de manière rationnelle, le problème doit être concret. Quel expérimental Les variables peuvent être étudié ? Quelles réponses peuvent être mesurées? Lorsque les variables expérimentales et les réponses ont été définies, les expériences peuvent être planifiées et formé de manière à obtenir un maximum d'informations à partir d'un minimum d'expériences. **(Lundstedt et al., 1998)**

### **1. Historique :**

Concepts d'expérience très ancien, même si ce n'est pas pour longtemps une formalité stricte. Concernant le XVIIIe siècle, les expériences de James Lind (1716-1794) et François Crète de Balwell (1741-1798) sont souvent citées en exemple. La première concerne l'effet de la consommation d'oranges et de citrons sur le scorbut, et la seconde expérience mentionnée par exemple concerne une comparaison des différents aliments fournis aux ovins. On peut rappeler le XIXe siècle, les travaux de Claude Bernard (1813-1878), en médecine, et Johann Gregor Mendel (1822-1884), en génétique (Bernard, 1865; Mendel, 1866). À partir de 1921, Fisher publie une série de notes intitulées En particulier, des études sur la diversité des cultures, ainsi que son livre de renommée mondiale, *Statistical Methods for Researchers*. On peut considérer ces travaux comme la base de tout ce qui a été réalisé plus tard. Respectez trois principes: la répétition, le hasard et le contrôle local. en 1933, Fisher publie son livre *The design of experiments*, qui est en quelque sorte une synthèse des études qu'il a réalisées au cours de ses 14 années consacrées à la recherche agronomique. On peut mentionner quelques publications particulièrement importantes, qui constituent le point de départ des principaux développements nouveaux :

Les travaux de Yates relatifs aux expériences factorielles et aux expériences en blocs incomplets.

Les travaux de Cochran, relatifs notamment aux expériences en cross-over.

Le travail de Finney 1945, relatif aux expériences factorielles fractionnaires (ou incomplètes).

Le travail de Box et Wilson 1951, relatif au choix des traitements dans le but de déterminer au mieux des surfaces de réponse.

Le travail de Scheffé 1958, qui considère la question des surfaces de réponse dans le cas particulier des mélanges de différentes substances.

Le travail de Kiefer 1959, qui aborde sous la dénomination de plans optimaux.

Les ouvrages récents, tels que ceux de Goupy et Creighton 2006, sont relatifs à 90% ou plus au choix des traitements. **(Dagnelie, 2008)**

## **2. Définitions :**

### **2.1. Expérimentation :**

L'expérimentation constitue le processus qui conduit à partir de l'émetteur de l'hypothèse à la réalisation d'une expérience et à l'analyse de ses résultats. **(Develay, 1989)**

### **2.2. Expérience :**

Le mot expérience correspond à tous les processus qui permettent d'étudier deux ou plusieurs traitements appliqués à un nombre spécifique unités pilotes. Dans le domaine industriel, en revanche, le mot expérience fait référence à l'extrême très souvent, les deux manipulations liées à une application du traitement sont effectuées unité expérimentale. **(Dagnelie, 2008)**

### **2.3. Plan d'expérience :**

Plans d'expériences est d'abord un ensemble de moyens mathématiques permettant de structurer une expérimentation dans le but d'extraire une information objective et pertinente, au moindre coût. C'est également une méthodologie permettant d'élaborer un projet expérimental qui implique souvent des auteurs et des équipes utilisant des moyens assez variés, qu'il faut faire coopérer de façon efficace, et autant que possible dans la convivialité. **(Richard, 2005)**

### **2.4. Un schéma d'expérience :**

Mettant en évidence le contrôle de certains paramètres ou facteurs, alors que d'autres pourront évoluer spontanément. Les réponses des unités expérimentales (corps d'épreuves, système, logiciel) sont utilisées pour trouver des modèles ; on pourra les déterminer en faisant varier certains paramètres contrôlés, dans une même expérience ou dans une suite d'expériences. Des facteurs non contrôlés peuvent perturber l'expérience, ces facteurs peuvent être liés à l'ambiance, à l'origine variable de certains composants. **(Richard, 2005)**

## **3. Les objectifs et l'intérêt d'un plan d'expériences :**

Le but principal de l'expérimentation est d'établir des relations de dépendance entre certains facteurs et certaine réponse, et de les modéliser. L'objectif général des plans d'expérience peut être défini de la façon suivante : minimiser le coût d'obtention d'une

information fiable. C'est t- dire : Faire le minimum d'essais et obtenir le maximum de précision sur les résultats visés. **(Richard, 2005)**

Leur utilisation vise aux buts de :

- Détermination des facteurs clés dans la conception d'un nouveau produit ou d'un nouveau procédé.
- Optimisation des réglages d'un procédé de fabrication ou d'un d'appareil de mesure.
- Prédiction par modélisation du comportement d'un procédé. Il s'intègre donc parfaitement dans la démarche d'amélioration de qualité. **(Gendre et al., 2009)**

#### **4. Terminologie:**

Pour simplifier la communication, quelques termes différents sont définis. D'autres lorsqu'ils sont nécessaires :

Le Domaine expérimental : La «zone» expérimentale étudiée (définie par la variation des variables Expérimental).

Les facteurs : Variables expérimentales pouvant être modifiées indépendamment les unes des autres.

Variables continues : Variables indépendantes pouvant être modifiées en continu.

Discret Variables : Variables indépendantes qui sont modifiées par étapes, par exemple le type de solvant.

Réponses : La valeur mesurée du résultat à partir d'expériences.**(Lundstedt et al., 1998)**

Niveaux : L'ensemble des valeurs possibles que l'on attribue à un facteur. **(Gendre et al., 2009).**

Interaction : Indique l'effet qui influence apparente d'un facteur ou plusieurs sur la réponse selon le niveau d'un autre facteur. **(Sandrine, 2004).**

Matrice d'expérience : Définit les essais à réaliser. Le terme essai est l'équivalent de point d'expérience lorsque l'on emploie la représentation en tableau des plans d'expérience. Plusieurs autres appellations existent pour désigner un essai : traitement, combinaison, expérience...etc. **(Goupy, 1999)**

L'espace expérimental : C'est une grandeur de réponse dans l'étude, la valeur de cette grandeur dépend de plusieurs variables ou bien facteurs. La valeur donnée à un facteur pour réaliser un essai est appelée niveau. Lorsqu'on étudie l'influence d'un facteur, en

général, on limite ses variations entre deux bornes. La borne inférieure est le niveau bas, La borne supérieure est le niveau haut. **(Goupy, 2006)**

Optimisation : Le terme optimisation désigne une action visant à trouver l'ensemble des valeurs de ces variables opératoires qui entraîne un état souhaité pour le système. Les variables opératoires (les facteurs) peuvent être de nature très diverses.

### **5. La méthodologie pour élaborer un plan d'expérience :**

La mise en œuvre d'un plan expérimental consiste sept étapes pour arriver au résultat final :

1. Définition des objectifs et d'une enveloppe des moyens : Il faut s'assurer en général que l'on a bien rassemblé tout le savoir existant.
2. Une définition plus technique des problèmes et des moyens : Choisir les facteurs a étudié, leurs domaines d'amplitude, le domaine global.
3. La construction du plan : Construire un ou plusieurs plans peut aider à clarifier les objectifs.
4. La réalisation des essais.
5. Analyse des résultats et interprétation.
6. Validation des résultats.
7. Valorisation, archivage : Diffuser la méthode suivie, le savoir acquis et son application faire le bilan des progrès possibles. **(Richard, 2005)**

### **6. Sélectionnez un modèle et planifiez les expériences:**

Lorsqu'une liste de variables à étudier a été complétée, un plan expérimental est choisi afin d'estimer l'influence des différentes variables sur le résultat. Dans les études de dépistage, interaction linéaire ou de second ordre les modèles sont courants, comme dans les plans factoriels complets ou fractionnaires. L'ancienne conception se limite à la détermination de l'influence linéaire des variables, tandis que cette dernière permet des termes d'interaction entre les variables à évaluer également. Finalement, les variables ayant la plus grande influence sur la procédure peuvent être identifiées. **(Lundstedt et al., 1998).**

### 7. Type de plan expérimental :

Il existe plusieurs types des plans d'expérience qui sont regroupées en deux familles dans le tableau suivant : (Goupy, 2006)

**Tableau 06:** Les différents types des plans expérimentaux.

Plans de criblage	Plans de modélisation
Plan factoriel complet	Plan de Koshal
Plan factoriel fractionnaire	Plan RechtschafRner
Plan sursaturé	Plan de Plackett et Burmann
Plan à plusieurs niveaux	Les tables de Taguchi

#### 7.1. Plan factorielle:

Dans un plan factoriel, les influences de toutes les variables expérimentales, facteurs et effets d'interaction sur la réponse ou les réponses sont étudiées. Si les combinaisons de  $k$  facteurs sont étudiées à deux niveaux, une factorielle  $2^k$  la conception consistera en expériences. Les expériences à trois ou quatre centres devraient toujours être incluses dans les plans factoriels, pour les raisons suivantes: le risque de manquer des relations non linéaires au milieu des intervalles est minimisé et la répétition permet de déterminer les intervalles de confiance. (Lundstedt et al., 1998).

#### 7.2. Plans factoriel fractionnaires :

Est un plan incomplet où toutes les combinaisons possibles de niveaux des  $k$  facteurs ne sont pas présentes, avec un nombre d'essais réduit est appelé degré de fractionnement du plan factoriel. Ces plans sont généralement construits à partir des tables de Box et Hunter. La réduction du nombre d'essais est réalisée en utilisant des interactions entre les facteurs. On conserve  $k - p$  facteurs principaux qui seront testés de façon complète, soit  $2^{k-p}$  essais. Les facteurs suivants, de  $k - p + 1$  jusqu'à  $k$ , sont dits à coder ou encore appelés générateurs ; ils représentent des produits de facteurs et n'augmentent donc pas le nombre d'essais à réaliser. Par exemple, la matrice d'expériences montre un plan fractionnaire, il comprend un test complet des  $k$  facteurs principaux. Pour ces facteurs, le niveau bas est représenté par «  $-1$  » et le niveau haut par «  $+1$  ». En conservant le même nombre de lignes, la matrice des essais fait

apparaître deux facteurs supplémentaires issus d'interactions. Les facteurs sont codés au moyen des générateurs. **(Treuillet et al., 2004)**

### **7.3. Plan factoriel complets :**

Les plans factoriels complets à deux niveaux permettent essentiellement de repérer les facteurs et les interactions influents. Ils ouvrent la voie à des plans complémentaires permettant une modélisation mathématique de la réponse dans le domaine d'étude. **(Vaillé et Goupy, 2006).**

### **7.4. Les tables de Taguchi :**

L'optimisation de Taguchi est une technique d'optimisation qui utilise les matrices orthogonales (OA) standard sous forme de qui donne un nombre très réduit d'essais expérimentaux fonctionne avec un "réglage optimal" des paramètres de contrôle et aussi le meilleur niveau de chaque paramètre correspondant à la réponse optimale de la fonction objective. Dans cette méthode, initialement le nombre de contrôles les paramètres et les niveaux doivent être identifiés pour le système considéré. En fonction du nombre de paramètres et de niveaux de contrôle, le tableau orthogonal (OA) approprié doit être sélectionné, et l'OA spécifier le nombre optimal de tests à effectuer avec des niveaux des variables de contrôle sélectionnées. Cette technique utilise le signal moyen pour analyser la réponse des essais expérimentaux. **(Kumar et Murugesan, 2020)**

### **7.5. Plan de Plackett et Burmann :**

Aussi connu sous le nom de "Hadamard Matrix Designs", Le modèle Plackett-Burman (PBD) est un modèle fractionnaire à deux niveaux le plan factoriel développé par Plackett et Burman. Dans toute expérience de PBD, jusqu'à N 1 facteurs peuvent être examinés avec N nombre d'expériences, où N est réglé sur un multiple de 4. Ce type de conception suppose que les interactions entre ces facteurs peuvent être complètement ignorées. Par conséquent, la PBD n'est utile que pour estimer les principaux effets des facteurs en cause. Néanmoins, cette conception a été largement utilisée pour déterminer les paramètres importants d'un processus. **(Sy Mohamad et al., 2020).**

Les plans de Plackett et Burman et les tables de Taguchi sont souvent des plans saturés. **(Goupy, 2006)**

**7.6. Les plans de Koshal :**

Sont des plans qui permettent de déterminer uniquement les effets principaux des facteurs. On ne peut pas évaluer les interactions. Ces plans, peu connus, sont très pratiques pour dégrossir un problème. Ils offrent l'avantage de donner directement l'effet des facteurs. Ils forment le début d'un plan factoriel qu'il est toujours loisible de compléter pour obtenir un plan complet ou fractionnaire. (Goupy, 2006)

**7.7. Les plans de Rechtschaffner :**

Les plans de Rechtschaffner sont des plans factoriels fractionnaires simplifiés qui permettent de déterminer les effets des facteurs et les interactions d'ordre deux. Toutes les autres interactions sont supposées nulles avant même l'expérimentation. Il suffit de choisir un plan fractionnaire de résolution III pour obtenir un plan de Rechtschaffner. Mais l'idée de ne déterminer que les effets principaux et les interactions d'ordre deux a été étendue par Rechtschaffner aux plans du second degré et aux facteurs prenant trois niveaux. (Goupy, 2006)

**7.8. Plan sursaturé :**

Un plan sursaturé est un plan qui comporte moins d'essais que de coefficients à déterminer dans le modèle mathématique. Les plans factoriels fractionnaires peuvent être considérés comme sursaturés. Mais, il existe des plans encore plus sursaturés que les plans factoriels fractionnaires. Ce sont des plans dont les facteurs principaux sont alaisés entre eux. Ces plans sont utiles lorsqu'il y a beaucoup de facteurs à examiner et lorsqu'on est sûr que peu d'entre eux sont influents sur la réponse. Certains plans proposent l'étude de 66 facteurs en 12 essais ou de 272 facteurs en 24 essais. La théorie des alaises est applicable à ces plans puisqu'on regroupe les coefficients dans des contrastes. Mais l'interprétation n'est pas toujours facile. (Goupy, 2006)

# Partie expérimentale

## **I. MATERIEL ET METHODE :**

### **1. Objectif d'étude :**

L'objectif de cette étude est de trouver les conditions optimales pour un bon rendement de l'extraction de chitosane à partir de coproduits de crevettes en suivant les étapes de déminéralisation, Déprotéinisation et désacétylation et caractérisé les principales propriétés de chitosane.

### **2. Matériels d'expérimentation :**

#### **2.1. Solution et produits utilisé :**

HCL, NAOH, acide acétique, eau distillé

#### **2.2. Appareillages :**

- Balance
- Autoclave
- Viscosimètre
- PH-mètre
- Les verreries de laboratoire
- Plaques chauffantes et agitateurs
- 

## **3. METHODE D'ETUDE :**

### **3.1. Production de la chitine et chitosane :**

#### **3.1.1 Prétraitement des carapaces de crevettes :**

Les carapaces de crevettes ont été collectées dans des pêcheries de Tlemcen Oran Ain T'émouchent. Ces déchets contenant la paroi molle, la tête, patte et autre ont été débarrassées tout d'abords de leurs antennes, ils subissent ensuite un lavage avec de l'eau chaude et froid afin d'éliminer les résidus organiques, sécher ensuite à l'air libre.



(1) (2) (3)

**Figure 05 :** les carapaces de crevettes(1) nettoyé (2) et séchées(3) (**Originale**).

### **3.1.2. Le broyage des carapaces :**

Le broyage avec des diamètres spécifiques, entre 0.65 et 1.5mm.

### **3.1.3. Obtention de chitosane :**

Le chitosane a été obtenu après les trois étapes suivantes : la déminéralisation en milieu acide (HCL) pour éliminer les sels minéraux, puis une Déprotéinisation pour dissoudre les protéines en milieu basique (NAOH) enfin une désacétylation simultanée par voie hydrothermo-chimique en milieu basique. (**Mohanasrinivasan et al., 2013**).

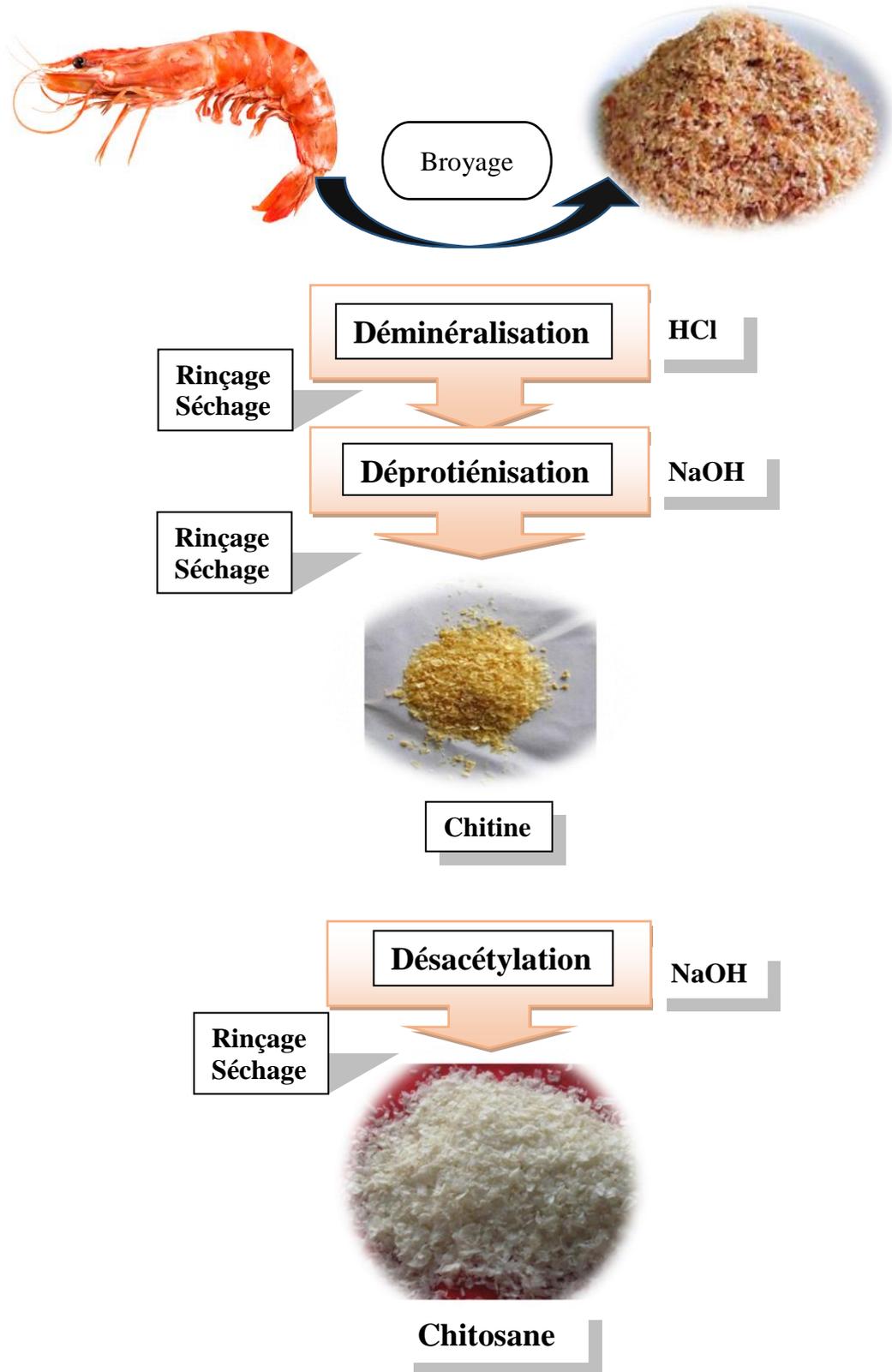


Figure 06 : Les étapes d'extraction de chitine et chitosane

#### **4. Protocole d'optimisation :**

Afin d'optimiser les étapes d'extraction, Cinq facteurs ont été étudiés ; la concentration d'acide HCL, concentration de NAOH, le rapport S/L, la température et le temps d'agitation ainsi que la grosseur des particules. Et pour déterminer l'efficacité de chaque traitement, des mesures de teneur en cendre, teneur en protéine et le DA furent effectuées avant et après sur échantillons obtenus.

##### **4.1. Plan d'optimisation de la déminéralisation :**

Les carapaces après prétraitement (lavage, séchage et broyage), ont été minutieusement mélangées 100g de la poudre dans des solutions aqueuses d'acide chlorhydrique (HCl) dans un Bécher sous agitateur. Tout au long de l'expérience, le rapport de solide-liquide s/v (poids de carapace sec (g)/volume de solution HCl dilué (ml)) est de 1/10 et 1/20. Dans les 16 essais qui sont réalisés à température entre 25°C et 50°, les échantillons ont été mélangés avec l'acide HCl d'une concentration allant de 0,5 à 1,1%. Ce mélange est filtré par la suite, à l'aide d'un papier filtre, lavé jusqu'à un pH =7 puis séchage. Avec un test de répétabilité 2 fois après chaque essai.

**Tableau 07** : Plan de Déminéralisation

N° d'essais	Concentration_HCL	Température	Temps d'agitation	Démentions des particules	rapport s/l
	N	°C	H	mm	g/ml
1	0.500	25	0,5	0,65	01:20
2	1.10	25	0,5	0,65	01:10
3	0.500	50	0,5	0,65	01:10
4	1.10	50	0,5	0,65	01:20
5	0.500	25	6	0,65	01:10
6	1.10	25	6	0,65	01:20
7	0.500	50	6	0,65	01:20
8	1.10	50	6	0,65	01:10
9	0.500	25	0,5	1,5	01:10
10	1.10	25	0,5	1,5	01:20
11	0.500	50	0,5	1,5	01:20
12	1.10	50	0,5	1,5	01:10
13	0.500	25	6	1,5	01:20
14	1.10	25	6	1,5	01:10
15	0.500	50	6	1,5	01:10
16	1.10	50	6	1,5	01:20

**4.2. Plan d'optimisation de la déprotéinisation :**

Dans un Bécher, la quantité du filtrat obtenu à peu près 80g dans l'étape précédente (poudre déminéralisée) subit un traitement par d'une solution de NaOH de rapport (1 :10 /g : ml) et (1 :20 / g : ml) à C entre 0.3 et 2.5 sous agitation à T° différente pendant 2h à 6 h a T° 70°Cet 100 tout au long de 16 essais. Ce mélange est filtré par la suite, à l'aide d'un papier filtre, lavé jusqu'à un pH =7 puis séché. Dans cette étape, le produit obtenu est en principe de la chitine. Avec un test de reproductibilité 2 fois avec une solution de KOH, 16 fois.

**Tableau 08** : Plan de Déprotéinisation

N° d'essais	Concentration_NaOH	Température	Temps d'agitation	démentions des particules	rapport s/l
	M	°C	H	mm	g/ml
1	0,3	70	2	0,65	01:20
2	2,5	70	2	0,65	01:10
3	0,3	100	2	0,65	01:10
4	2,5	100	2	0,65	01:20
5	0,3	70	6	0,65	01:10
6	2,5	70	6	0,65	01:20
7	0,3	100	6	0,65	01:20
8	2,5	100	6	0,65	01:10
9	0,3	70	2	1,5	01:10
10	2,5	70	2	1,5	01:20
11	0,3	100	2	1,5	01:20
12	2,5	100	2	1,5	01:10
13	0,3	70	6	1,5	01:20
14	2,5	70	6	1,5	01:10
15	0,3	100	6	1,5	01:10
16	2,5	100	6	1,5	01:20

#### **4.3. Plan d'optimisation de la désacétylation :**

Pour éviter longtemps temps de chauffage, le reflux dans une solution alcaline a été essayé dans un autoclave sous pression de deux atmosphères. (Abdou et al., 2008). La quantité de la chitine subite un traitement par une solution de NaOH à 40 et 30% à T° différente entre 80°C et 121°C pendant 0.5h et 3h. Ce mélange est filtré par la suite, à l'aide d'un papier filtre, lavé jusqu'à un pH =7 puis séché comme précédant. Dans cette étape, on obtient le chitosane.

**Tableau 09:** Plan de désacétylation

N° d'essais	Concentration NaOH	Température	Temps d'agitation	Démentions des particules	rapport s/l
	%	°C	H	mm	g/ml
1	40	50	0,5h	0,65	01:20
2	30	50	0,5h	0,65	01:05
3	40	121	0,5h	0,65	01:05
4	30	121	0,5h	0,65	01:20
5	40	50	3	0,65	01:05
6	30	50	3	0,65	01:20
7	40	121	3	0,65	01:20
8	30	121	3	0,65	01:05
9	40	50	0,5h	1,5	01:05
10	30	50	0,5h	1,5	01:20
11	40	121	0,5h	1,5	01:20
12	30	121	0,5h	1,5	01:05
13	40	50	3	1,5	01:20
14	30	50	3	1,5	01:05
15	40	121	3	1,5	01:05
16	30	121	3	1,5	01:20

**5. Mesure des paramètres physicochimiques :**

**5.1. Détermination de taux de cendres avant et après la déminéralisation :**

Le principe de la détermination de la teneur en minéraux repose sur leur résistance à la chaleur.

La teneur en cendres est déterminée par incinération de la matière organique à 600°C pendant 3 heures. Environ 5g d'échantillon sont ajoutés et la masse de l'ensemble est notée. Les échantillons sont alors soumis à une température de 600°C dans un four à moufle pendant 3 heures. Après refroidissement dans un dessiccateur, les capsules

contenant les cendres sont pesées à nouveau. La teneur en cendres des échantillons est calculée suivant la formule suivante :

$$C\% = [(M1 - M2) / (M1 - M0)] * 100$$

C% : teneur en cendres ; M0 : masse en g de la capsule vide ; M1 : masse en g de la capsule et les échantillons avant incinération ; M2 : masse en g de la capsule avec les cendres (après incinération) **(Boualem et Hocine, 2018)**.

## **5.2. Détermination de taux de protéines avant et après la déprotéinisation :**

La méthode utilisée pour le dosage des protéines totales est celle de Kjeldhal. Il consiste à un dosage de l'azote contenu dans l'échantillon. Un facteur de conversion de 6,25 est utilisé pour obtenir la teneur en protéines. **(Crooke et Simpson, 1971)**.

### **5.2.1. Méthode de Kjeldhal :**

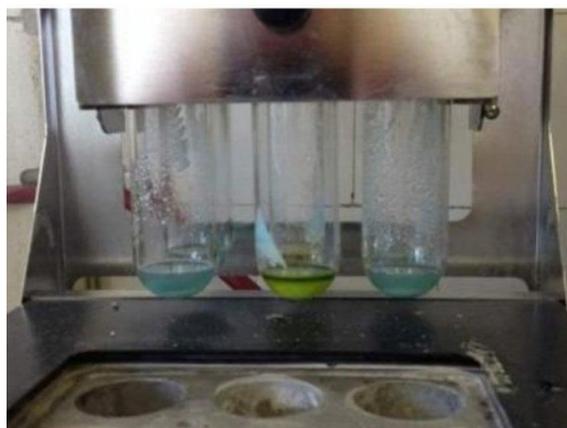
La méthode Kjeldhal comprend quatre étapes:

#### **➤ Précipitation des protéines :**

Dans le produit biologique Pipeter 2 ml d'échantillon et 2,5 ml d'acide trichloracétique à 40% dans des godets de centrifugeuse. Bien mélanger et laisser refroidir pendant 4h pour une précipitation complète. Centrifuger pendant 30 minutes à 3000-4000 rpm. Décanter soigneusement le surnageant et dissoudre le précipité avec 0,5 ml de 5N Solution de NaOH. Après la dissolution complète du précipité est transfusé dans un 200 ml de minéralisation. La tasse est lavée sept fois avec un minimum d'eau distillée.

#### **➤ Minéralisation des protéines :**

Dans l'échantillon, ballon de minéralisation, ajouter 5 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré et environ 3 g de mélange de catalyseurs (sulfate de potassium et sulfate de cuivre pentahydraté dans la proportion de 5:1. Placer le flacon sur minéralisation dans le Digesteur de varech pendant 23 minutes à 420°C



**Figure 07:** Minéralisation de l'échantillon (Athanasopoulos et al., 2019)

➤ **Distillation :**

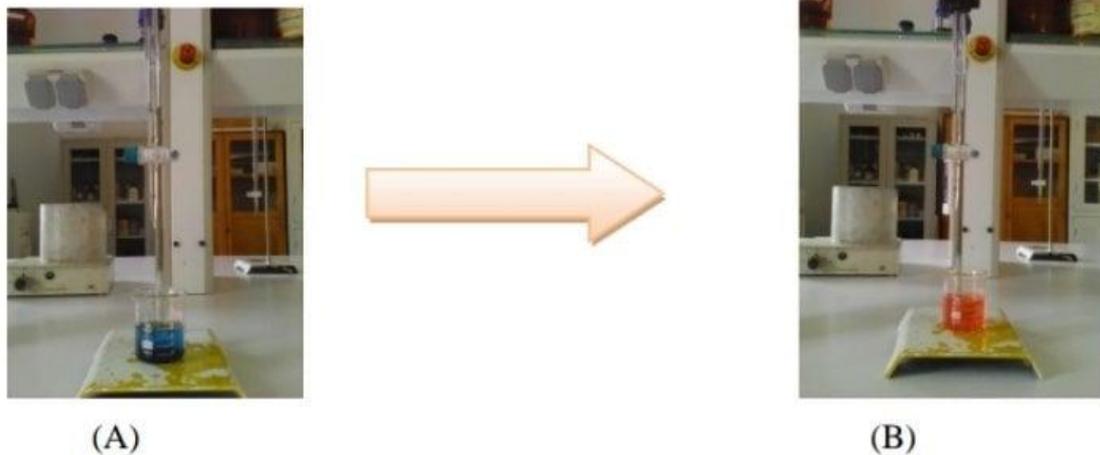
La libération d'ammoniac par décomposition le sulfate d'ammonium et l'ammoniac de distillation est fait dans le distillateur VELP. Placer le distillé l'eau à un volume de 30 ml dans le minéralisé de produit, puis distiller avec 60 ml 33% NaOH. Le distillat est repris dans 20 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> N / 50 et 0,3 ml d'indicateur Tashiro (0,2 g de méthyle rouge et 0,1 g de bleu de méthylène ont été mélangés et amené dans une fiole jaugée de 100 ml avec 96% d'alcool éthylique).



**Figure 08 :** Distillation de l'échantillon (Halla et Chaib, 2017)

➤ **Titration :**

Dose d'ammoniac l'excès n'ayant pas réagi de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> N / 50 avec de l'ammoniac est titré avec une solution de NaOH N / 50 jusqu'à coloration bleue. La différence entre le nombre de ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> N / 50 initialement fixé et ceux trouvés par titrage avec une solution de NaOH N / 50 est le nombre de ml d'acide sulfurique mis à réagir avec de l'ammoniac. Calcul des résultats 1 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> N / 50 correspond à 0,28 mg de N<sub>2</sub>. Connaissant le volume de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> N / 50 qui a réagi avec l'ammoniac en multipliant par 0,28, nous découvrons la quantité d'azote dans le produit biologique, exprimée en mg / ml. L'azote protéique représenterait en moyenne 16%. Mg de protéine / ml d'échantillon =  $(V1F1 - V2F2) \times 0,28 \times 6,25 / 2 V1$  = le volume de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> N / 50 prélevé au travail, ml F1 = facteur de solution H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> N / 50 V2 = volume de NaOH N / 50 utilisé pour le titrage. (Athanasopoulos et al.,2019)



**Figure 09 :** Principe de titrage (A) avant (B) après. (Halla et Chaib, 2017)

### **5.3. Détermination de degré de désacétylation(DD) avant et après la désacétylation :**

#### **5.3.1. Spectroscopie infrarouge :**

La spectroscopie infrarouge à transformation de Fourier FTIR est une méthode qualitative qui permet d'identifier les groupements fonctionnels par l'apparition de bandes de vibrations caractéristiques, et tester la pureté d'une substance par la position des bandes. Les vibrations entre les atomes et entre différents groupements d'une molécule créent un champ électromagnétique de même fréquence lorsqu'ils sont exécutés par une longueur d'onde du spectre infrarouge. Cette vibration et rotation des molécules causés l'adsorption.

#### **5.3.2. Mode opératoire :**

Les échantillons de chitine et de chitosane produits ont été caractérisés par infrarouge transformé de Fourier (FTIR) spectroscopie dans la gamme de 400 à 4000 par cm. Des échantillons de chitine et de chitosane (10 g) ont été mélangés avec 100 g de bromure de potassium séché (KBr) et comprimé pour préparer un disque de sel (10 mm de diamètre). Les disques ont été conditionnés dans un dessiccateur placé dans un four à 80 ° C pendant 16 heures avant analyse pour lire le spectre. Les absorbances à 1655 et 3450 cm<sup>-1</sup> ont été utilisées pour calculer la DD selon l'équation suivante :

$$DD = 100 - \frac{A_{1655}}{\frac{A_{3450}}{1.33}} * 100$$

DD : est le degré de désacétylation.

A<sub>1655</sub>cm<sup>-1</sup> et A<sub>3450</sub>cm<sup>-1</sup> : sont les hauteurs absolues des bandes d'absorption de groupes amide et hydroxyle.

Le facteur 1,33 dénotait la valeur du rapport A<sub>1655</sub> / A<sub>3450</sub> pour une N-acetyl.(**Youcefi et Riazi, 2012**)

### **6. Solubilisation du chitosane :**

La solution du chitosane est préparée en dissolvant 1g du chitosane en poudre dans 100 ml d'acide acétique (99%) de pureté, 1% de concentration sous agitation constante a T° ambiante 25 jusqu'à sa solubilisation.

## **7. Viscosité :**

La viscosité du chitosane dépend du degré de désacétylation de ce polymère. Plus il est désacétylé, plus il y a de groupements amines libres, le chitosane est donc plus soluble et par conséquent sa viscosité est plus importante. La viscosité augmente avec la concentration, du poids moléculaire, chute lorsque la température augmente, et plus le pH est bas plus la viscosité est élevée. Ce paramètre est déterminé par viscosimètre.

**(Akouche, 2014)**

La viscosité du chitosane était calculée à l'aide de l'équation de Mark-Houwink classique :

$$[\eta] = KMa$$

$[\eta]$  est la viscosité intrinsèque du chitosane dépolymérisé.

K et a sont des constantes pour donner système soluté – solvant et température.

Avant la charge la solution de chitosane dans le viscosimètre, la solution doit être filtrée.**(Youcefi et Riazi, 2012)**

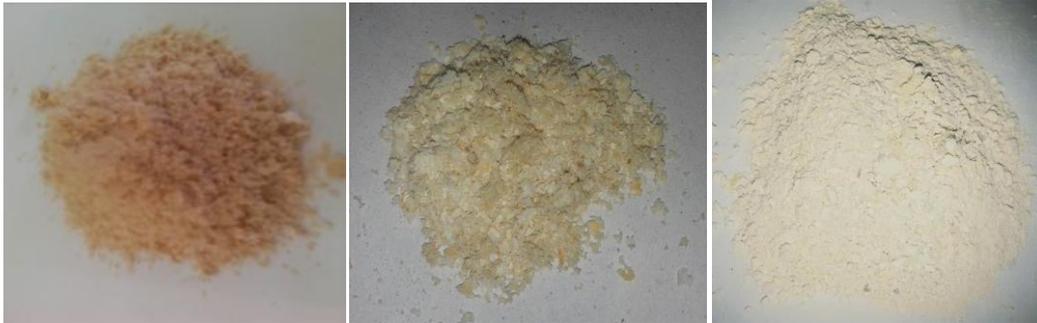
## **8. Diffraction des rayons X :**

Une analyse de diffraction des rayons X (XRD) a été appliquée pour détecter la cristallinité des échantillons de chitine extraits et leur chitosane correspondant. Un diffractomètre à poudre Scintag a été utilisé à cet effet entre 2 $\theta$  angles de 5 et 40. Un rayonnement Cu K $\alpha$  filtré sur Ni a été utilisé comme rayon X la source. La cristallinité relative des polymères a été calculée en divisant la surface des pics cristallins par la surface totale sous la courbe. **(Abdouet al., 2008)**

SYNTHESE DES  
RESULTATS ET  
DISCUSSION :  
*ETUDE SUR  
ARTICLES*

### 1. Caractérisation visuel de la chitine et de chitosane :

Visuellement, la couleur de chitine avant la déminéralisation est rosâtre grâce à la présence des pigments, après la déprotéinisation la chitine devient rose claire due à l'élimination d'impuretés des caroténo-protéines. Après la désacétylation la couleur de chitosane varie du blanc au jaune pâle et de texture plastique (**figure 10**). Cette différenciation peut être attribuée au fait que le niveau d'association de la chitine et le pigment varient d'un traitement à l'autre. (**Lower, 1984**) ; (**Benhabile et al., 2013**)



**Figure 10** : Caractéristique visuelle de la chitine et chitosane. (**Ali et al., 2019**)

### 2. L'Optimisation de la déminéralisation :

Plusieurs résultats ont été obtenus afin de choisir les conditions optimales d'extraction de chitine, parmi lesquelles : Dans l'étude de (**Tolaimate et al., 2003**), une nouvelle approche a été proposée en utilisant des bains successifs de concentrations différents en HCl (**tableau10**). Lors du premier bain, en une seule étape de concentration 0.55M et temps de réaction 1.5 h dans une température ambiante, et autre bain avec les mêmes conditions mais en plusieurs étapes. Il a observé que la déminéralisation qui réalisée en plusieurs étapes sera plus efficace que celui réalisé en une seule étape, car l'élimination des minéraux est nettement plus faible. Par plus solutions acides concentrées et temps de réaction plus longs, pas amélioration de l'efficacité de la déminéralisation réaction a été observée.

**Tableau 10** : Le taux de minéraux par rapport le temps de réaction et concentration d'HCl. (Tolaimate et al., 2003)

Concentration HCL [M]	Le temps de réaction	Taux de minéraux %
0.55	1.5	10.1
	1.5 (15', 15', 1h)	0.117
	3h	8.48
1.1	1.5h	0.909
	3h	0.331

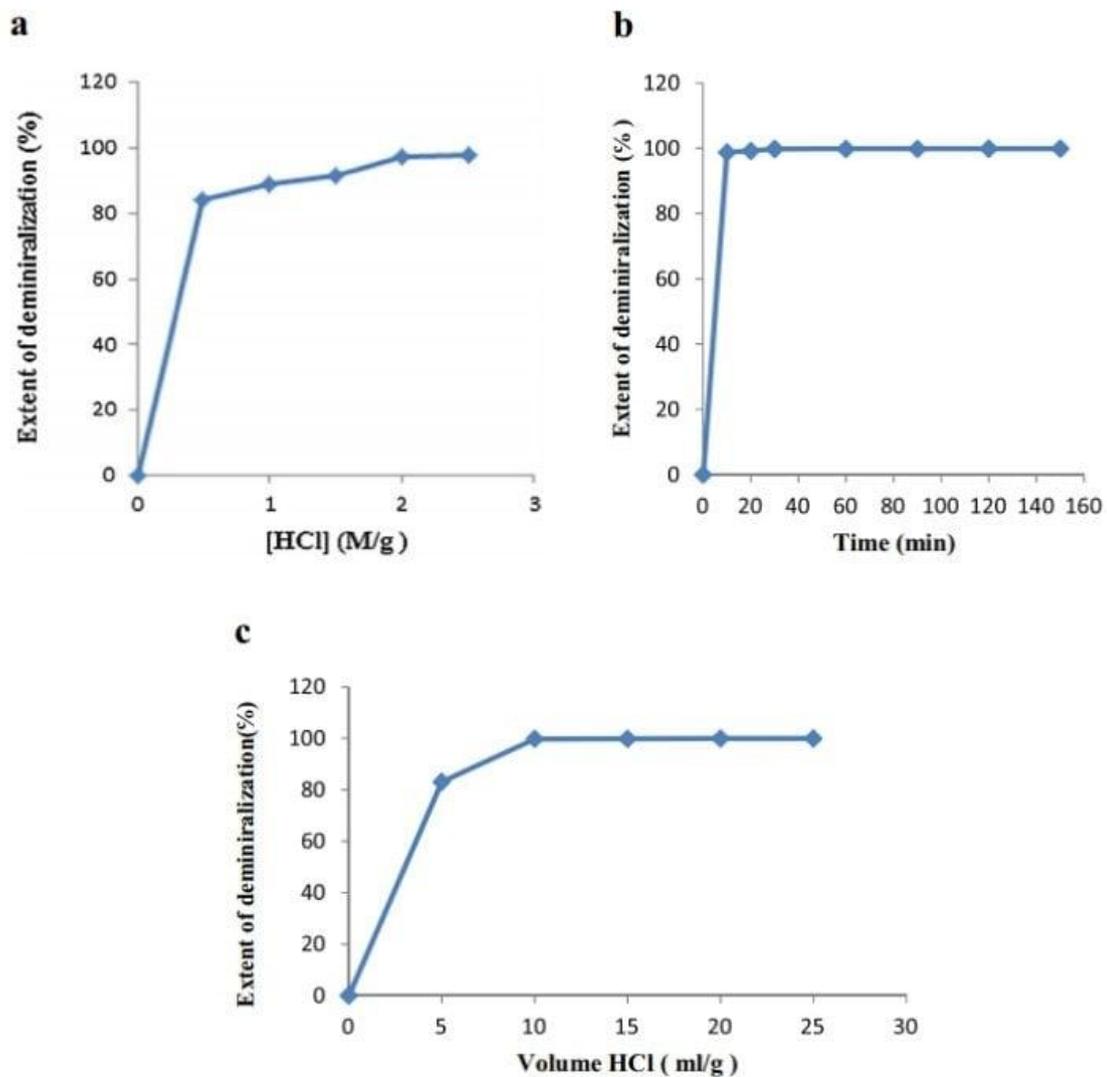
D'autre part des résultats de ( **Truong et al., 2007**) conclus que l'élévation de température permet à la fois de réduire de 2 à 3 fois le temps de réaction et la quantité d'acide d'environ 2 fois par rapport à 25°C , Les conditions préconisées pour la déminéralisation sont : une température de 50°C et une concentration d'acide respectives de 1.5 , 2 ou 2.5 M en moins de 3h avec un rapport de solide-liquide est de (1 :10 /g :ml). Cependant une déminéralisation ultérieure avec 1 N HCl pendant 30 min à température ambiante et un rapport solide - liquide (1 :10/ g : ml). La chitine contient 0,25% de cendres (**Youn et al., 2013**).

En fin l'étude de (**Liang et Tsai, 1997**) montre que la déminéralisation de chitine avec une concentration de 2 M d'HCl à 45 ° C pendant 2 heures était la meilleur pour un taux de réduction des cendres jusqu'à 91,98%. Ces résultats sont proches de ceux rapportés par (**No et al., 1988**) et par (**Shahidi et Synowiecki, 1991**).

**Bouhenna et al., 2015** Réalisée une déminéralisation pour éliminer le calcium carbonate, à une concentration d'acide chlorhydrique comprise entre 0,25 et 2,5 M pendant 5 à 150 min. Le rapport varie de 1/5 à 1/30 (g /ml) à température ambiante. Les analyses montre que la déminéralisation optimale obtenue avec une concentration de HCl 1,5 N pendant 30 min à la température ambiante avec un rapport solide / liquide 1/15. (**Tableau 11**).

**Tableau 11** : Les différents paramètres de la déminéralisation. (Bouhenna et al., 2015).

Concentration HCl[M]	Température (C°)	Temps (min)	Rapport (g/ml)
0.25	Température Ambiante	5	1 / 5
1		20	1/10
1.5		30	1/15
2		90	1/20
2.5		150	1/30



**Figure 11** :(a) Effet de la concentration de HCl. (b) Effet des temps.(c) Effet du rapport solides/solvant sur l'étendue de la déminéralisation.

En tant que synthèse de ces résultats, nous pouvons dire que les conditions optimales pour la déminéralisation de chitine est de température de 50 °C, concentration d' HCl de 1.1 M et un temps de réaction supérieur à 3h.

Toutefois, la température de déminéralisation plus élevée (> 50 °C) à faible concentration d'acide accélère la réaction par contre ralentir à température ambiante. Ainsi, plus la concentration d'acide est élevée, plus les couches ne sont attaquées rapidement par l'absorption de l'acide.

➤ **Taux de cendre :**

La teneur en cendre est un paramètre important qui influe sur la qualité de la chitine extraite, la mesure des cendres est un indicateur de l'efficacité de l'étape de déminéralisation pour l'élimination du carbonate de calcium. En effet si on veut produit du chitosane à partir d'une chitine qui contient un taux élevé de cendre peuvent affectent la solubilité, contribuant ainsi à réduire les la viscosité, ou peut affecter d'autres caractéristiques plus importantes du produit final. Une qualité élevée de chitosane devrait ont moins de 1 % de la teneur en cendres. (Nessa et al., 2010)

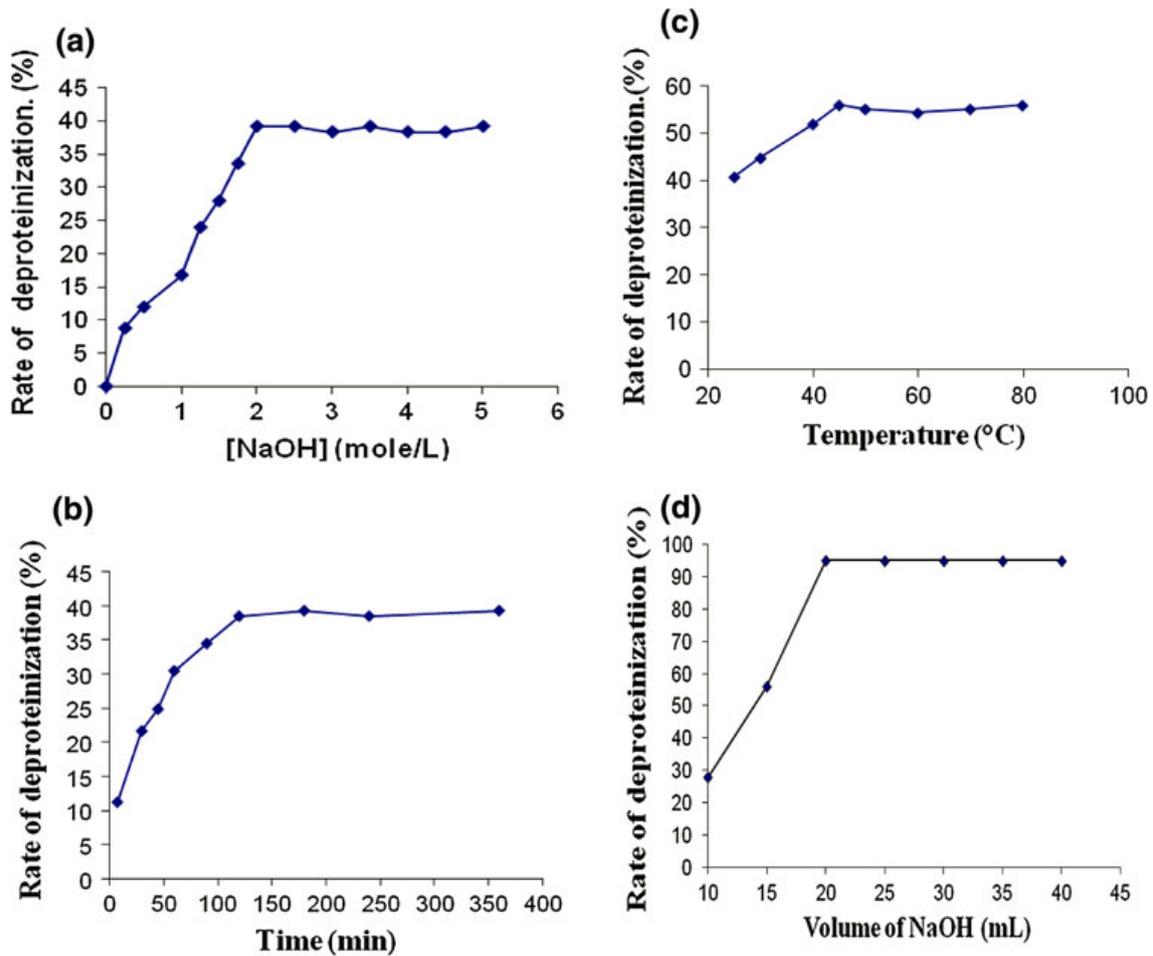
Des études antérieures ont montré que la teneur en cendres du chitosane provenant des déchets de crevettes désacétylés par 70% de NaOH pendant 72 h à température ambiante était de 32,27%. Le chitosane extrait des coquilles de crabe de boue, a été désacétylé avec 40% d'hydroxyde de sodium NaOH à 105 ° C pendant 2 h, a montré une teneur en cendres de 5,97% (Abdullah et al., 2019).

### **3. L'optimisation de la déprotéinisation :**

Les résultats obtenus par (Benhabiles et al., 2013) montrent que la variation des paramètres expérimentaux utilisés (concentrations alcalines, temps de réaction et température) permettent d'obtenir un taux de déprotéinisation optimal d'environ 55%. D'un autre côté, le rapport solide - liquide apparaît comme le paramètre le plus intéressant lors de cette étape.

En effet, le taux de déprotéinisation avec NaOH (2 N) pendant 2 h à 45° C de 30% au rapport solides - liquide (1 :10 /g : ml) à 96% avec un rapport solides - liquide (1 :20 / g : ml). De plus, Ce rendement (96%) était la valeur la plus élevée obtenu. Ce résultat s'explique probablement par le fait que cette protéine est liée par covalence à la

chitine, en aboutissant à la formation d'un complexe stable, rendant difficile l'augmentation du rendement 100%. (Benhabiles et al.,2013)



**Figure12 :** Effet de concentration de NaOH, temps de réaction, température et rapport solide /liquide sur la déprotéinisation. (Benhabiles et al., 2013).

Dans l'étude de Tolaimate et al, 2003 une nouvelle approche a été proposée en utilisant des bains successifs de concentrations plus faibles en NaOH 0,3 M avec température de 85°C pendant 1 h. Cette méthode a prouvé une bonne efficacité sur la réduction des protéines.

D'autre part l'étude de (Al sagheer et al., 2009) conclus que une base forte de 1 M NaOH avec une température 70°C pendant 24h permet d'améliorer la déprotéinisation.

Ensuite, (Liang et Tsai, 1997) approuvé que les conditions optimales de déprotéinisation se produisent à 75 ° C et à une normalité de NaOH 2,5 N. Une solution minimale au rapport solide - liquide (1:5 / g : ml) est nécessaire pour maintenir la fluidité pendant la déprotéinisation, lorsque la teneur en protéines passe de 16% à un peu plus de 7%. Après les 30 premières minutes dans cette condition (avec un rapport

solution - solide de (1 :12 / g : ml), la teneur en protéines diminue de 15,5% à 5,2% en 6 h.

Dans les travaux de **(Liang et Tsai, 1997)** la teneur minimale en protéines obtenue est d'environ 5%. C'est plus que les 2,1% et 2,3% signalé pour la crevette rose de Terre-Neuve **(Shahidi et Synowiecki, 1991)**. Néanmoins, il est comparable aux 0,4-5,6% rapportés par **(Austin et al., 1982)**.

Cependant, la procédure analytique utilisée pour déterminer la teneur en protéines pourrait également contribuer à la différence. **(Austin et al., 1981)** ont signalé que certaines protéines liées ne pouvaient être éliminées qu'après fractionnement des complexes chitine-protéine avec NaOH 1 N à 100 ° C pendant 48 h. **(Brine, 1982)** a signalé qu'un nombre considérable de protéines peuvent restées liées à la chitine même après un traitement intensif. L'incidence de la méthode analytique sur le résultat obtenu est démontrée : la méthode Kjeldhal est basée sur la réaction entre l'amino réactif et l'acide sulfurique. Les résultats analytiques de la teneur en protéines résiduelles pourraient donc être supérieurs aux résultats obtenus par l'analyse des extraits en acides aminés. **(Liang et Tsai, 1997)**.

**Bouhenna et al., 2015** a réalisé une déprotéinisation avec une concentration d'hydroxyde de sodium variée entre 0,5 à 3 M, pendant 20 à 150 min, à température variée de 20 à 70 °C. Le rapport solide /liquide variait de 1/5 jusqu'à 1/30 (g/ml)(**Tableau 12**).

Les analyse de **(Bouhenna et al., 2015)** montre que la réaction de déprotéinisation s'est produite à faibles concentrations de 2 M NaOH pendant 90 min avec température optimale de 55 °C. Le rapport optimal était d'environ 1/20 ml.

**Tableau 12** : Les différents paramètres de la déprotéinisation. **(Bouhenna et al., 2015)**.

Concentration NaOH [M]	Température (C°)	Temps (min)	Rapport (g /ml)
0.5	25	20	1/5
1	40	70	1/10
1.5	55	90	1/15
2	60	100	1/20
3	70	120	1/30

**Marina et al., 2018** a réalisé la déprotéinisation selon les paramètres suivants :

**Tableau 13:**les paramètres de déprotéinisation (**Marina et al., 2018**):

Concentration NaOH [M]	Temps (h)	Température C°
0.5	0.5	110
	1	115
	1.5	
1	0.5	110
	1	115
	1.5	
1.5	0.5	110
	1	115
	1.5	

Il obtient la plus grande efficacité dans l'extraction des protéines. En augmentant la concentration de NaOH et traitée avec des températures élevées (environ 110-115°C), avec un temps de réaction entre 0.5 et 1.5 h.

D'après la comparaison entre les paramètres cités dans le plan d'optimisation dans le chapitre matériel et méthodes avec la synthèse des résultats d'articles on conclut que les conditions optimales de déprotéinisation sont : 2.5 M de NaOH avec une température de 75°C dans un temps optimum de 6h de réaction et un rapport solide - liquide de (1 :20 /g : ml).

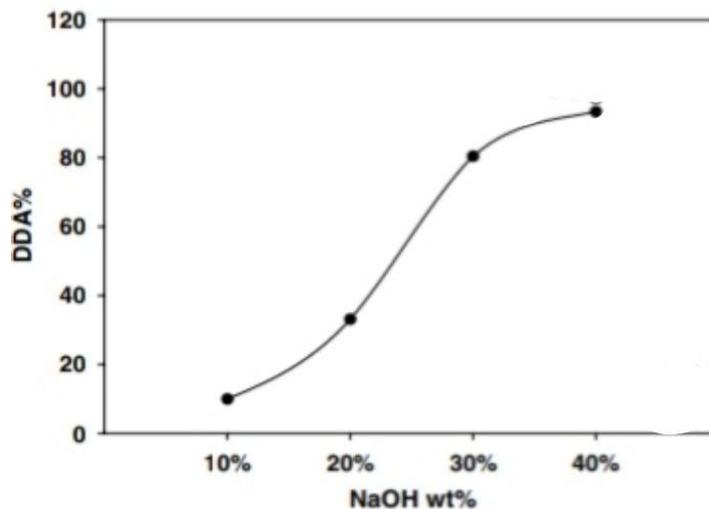
➤ **Teneur en protéine :**

Le taux de protéine trouvé indique l'efficacité de l'étape de déprotéinisation. des études de (**Shahidi et Abuzaytoun, 2005**) ; (**Waldeck et al., 2012**) ; (**Kurita, 2006**) présentent des proportions trouvées avec les valeurs de taux de protéines ne dépassant pas les 0.4 /g du chitosane. L'augmentation de la concentration ou de la température de NaOH abaisse la teneur en protéines après déprotéinisation. Augmentation de la quantité de protéines extraites avec température, tandis que le pourcentage de protéines restant dans la chitine obtenue diminue. La température semble être un paramètre critique pour la déprotéinisation en ce qui concerne la pureté de la chitine. (**Percot et al., 2003**)

#### 4. L'optimisation de la désacétylation :

Pour étudier l'effet de la concentration alcaline de la solution de trempage sur le DD%, différentes concentrations de solutions d'hydroxyde de sodium (10%, 20%, 30% et 40% avec un rapport solide-liquide (1 :20 / g : ml) dans les travaux de **(Abdou et al., 2008)** sont cités : pour le trempage de la chitine pendant 24 h, le temps dans l'autoclave a été maintenu à 0,5 h. Il s'est avéré que le DD% augmente à mesure que la concentration de NaOH augmente. Les résultats obtenus de cette étude montrent qu'une concentration de 40% avec une température 121 °C d'autoclave pendant 3h, peuvent conduire à un DD de 90%, à 30% de NaOH le DD atteint 80 %. **(Abdou et al., 2008)**

Il faut dire aussi que plus la température augmente plus le DD augmente par rapport la concentration de NaOH. **(Truong et al., 2007)**

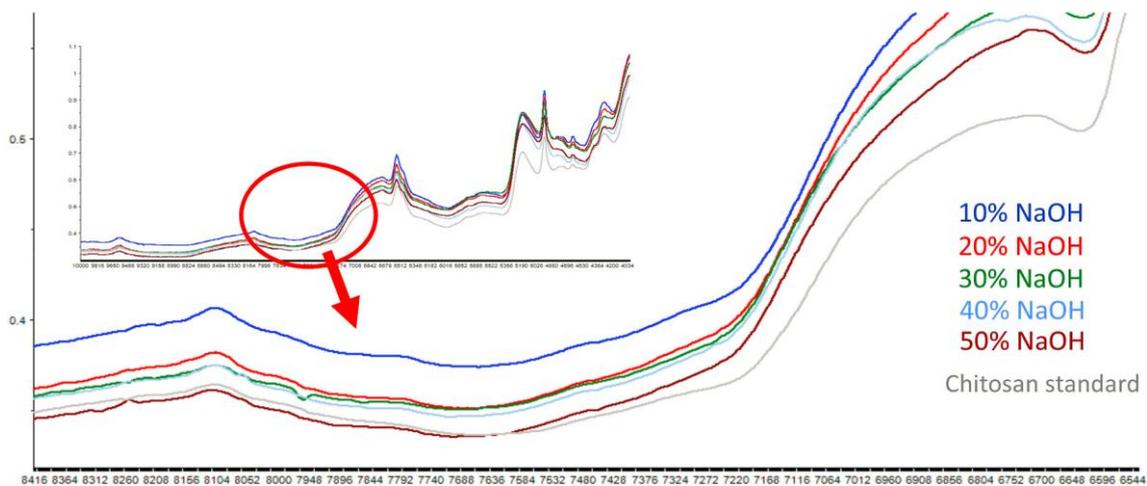


**Figure 13:** Effet de concentration de NaOH sur le DD. **(Abdou et al., 2008)**

**(Mohammed et al. 2012)** Cite dans ses travaux que le degré de désacétylation DD 64% peut être obtenu en traitant la chitine avec 50% de NaOH à 100°C pendant jusqu'à 10 h. Aussi un degré de désacétylation de 90 % a été atteint avec une concentration de la solution alcaline de 12,5 M, pendant 120 min à 110°C. **(Truong et al., 2007)**

Les échantillons de chitine isolés traités avec des solutions de NaOH à des concentrations comprises entre 10, 20, 30, 40 et 50 % de 50 ml (1:10 p/v) de NaOH, placés dans un autoclave pendant 15 minutes à 121 °C. Et comparé avec le chitosane standard. Les analyses effectuées par FTIR **(Figure 14)** montrée que la méthode

optimale pour l'isolement du chitosane était d'utiliser 10 % de NaOH. (Al Hoqani et al., 2020)



**Figure 14 :** Spectres FT-NIR du chitosane standard et du chitosane isolé à différentes concentrations de NaOH. (Al Hoqani et al., 2020)

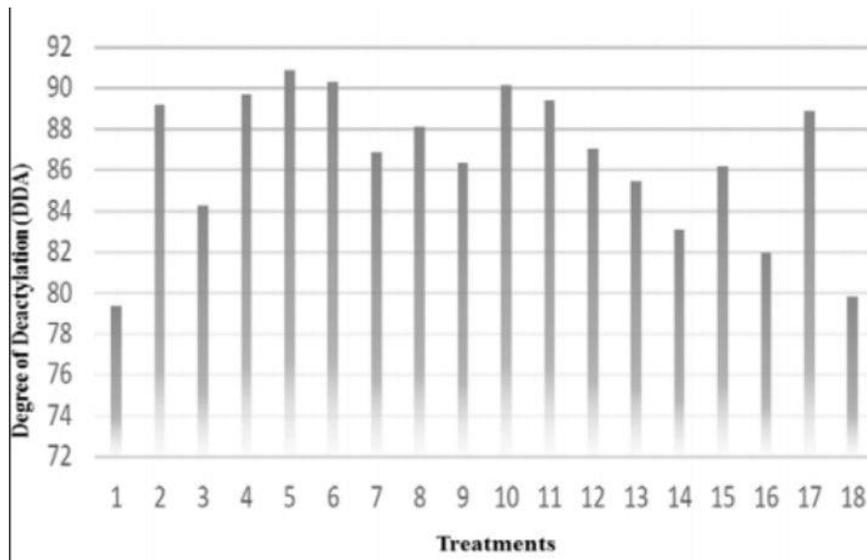
Tacarina et al., 2017 a réalisé les processus de désacétylation utilisant des traitements combinent la concentration de NaOH (60, 70 et 80 %), la température (110, 120, un taux de 130 C°) et différence de durée (4 et 6 heures) (Tableau 14). L'objectif de la combinaison de ces traitements était de trouver quel traitement peut produire du chitosane avec une valeur DDA élevée (> 75 %).

**Tableau 14** : Conception expérimentale sur l'étape de désacétylation (**Tacarina et al.,2017**)

Expérience	Température °C	Concentration %	Temps h
1	110	60	4
2	110	60	6
3	110	70	4
4	110	70	6
5	110	80	4
6	110	80	6
7	120	60	4
8	120	60	6
9	120	70	4
10	120	70	6
11	120	80	4
12	130	80	6
13	130	60	4
14	130	60	6
15	130	70	4
16	130	70	6
17	130	80	4
18	130	80	6

Les analyses de (**Tacarina et al., 2017**) montre que : Le plus faible DD est de 79,32 %, se trouve dans le processus de désacétylation a 60 % de NaOH à 110 °C pendant 4 heures (expérience 1). le DD le plus élevé, soit 90,83 %, trouvé dans le processus de désacétylation à 80 % de NaOH à 110°C° pendant 4 heures (expérience5). Cependant, la température d'ébullition et la durée n'étaient pas affectent le DD.

D'après le graphique, l'augmentation de la température de 110° à 120° et 130° combiné avec la prolongation du temps d'ébullition n'a pas augmenté le DD. On peut le voir sur le graphique, il y a 6 les pics représentés dans les expériences 5, 6, 10, 11, 15 et 17. Ces traitements présentent des similitudes l'ajout de NaOH de 60 à 80%. On peut donc en déduire que la concentration de NaOH est plus importante que la température et la durée d'ébullition pendant le processus de désacétylation. Le DD de chitosane peut atteindre les normes de qualité minimum de 75%.



**Figure 15 :**Le DD de chitosane extrait. (Tacarina et al., 2017)

### 5. La solubilisation de chitosane :

La solubilité est un paramètre très difficile à contrôler: il est lié à la DA, l'ionique, la concentration, le pH, la nature de l'acide utilisé pour la protonation, et la distribution de l'acétyle les groupes le long de la chaîne, ainsi que les conditions d'isolement et de séchage du polysaccharide.

D'après l'examen de **Rinaudo et al** du rôle de la protonation du chitosane en présence d'acide acétique et l'acide chlorhydrique sur la solubilité : le degré d'ionisation dépend de pH et pK de l'acide. La solubilisation de chitosane avec une faible DD se produit pour un moyen de degré d'ionisation du chitosane autour de 0,5 en HCl, correspond à un pH de 4,5-5. La solubilité dépend également de la concentration ionique,et un effet pour plus de 1 M HCl, ce qui permet de préparer la forme chlorhydrate du chitosane. Lorsque les formes chlorhydrate et acétate du chitosane sont isolées, ils sont directement solubles dans l'eau.

Ainsi, le chitosane est soluble à un pH inférieur à 6. La solubilité du chitosane est généralement testée dans l'acide acétique en le dissolvant dans 1 % ou 0,1 M d'acide acétique. Ils ont démontré que la quantité d'acide nécessaire dépend de la quantité de chitosane à dissoudre. La concentration de protons nécessaires est au moins égale à la concentration de NH<sub>2</sub> concernées.

Il est également important de prendre en considération les obligations H intra-chaîne impliquant les groupes hydroxyles. Le rôle de la microstructure du polymère est clairement démontré lorsque la chitine entièrement désacétylée et réacétylée en solution

; la valeur critique du chitosane DA pour atteindre l'insolubilité en milieu acide est alors plus grande que 60 %.

En outre, la solubilité à un pH neutre a également été revendiqué pour le chitosane, avec un DA d'environ 50%. Récemment, une forme hydrosoluble de chitosane à un pH neutre a été obtenue en présence de glycérol 2-phosphate. (**Rinaudou et al., 2006**)

Il n'y a pas beaucoup d'informations dans la littérature sur la solubilité de chitosane dans d'autres milieux acides, y compris l'eau en présence de du dioxyde de carbone comprimé (**Pardo-Castaño et Bolaños, 2019**).

En conséquence de la diminution des concentrations d'ions hydronium, Les solubilités à des températures plus élevées, comme 50 °C, étaient plus faibles. La solubilité du chitosane dans le CO<sub>2</sub>-eau sous pression est supérieure à cela dans de l'acide acétique aqueux. Nous pensons que ce fait pourrait être dû à un effet de renforcement causé par l'excès de dioxyde de carbone présent dans la phase gazeuse à haute pression, la température est un effet négatif sur le temps de solubilisation, tandis que le rapport solvant/chitosane a un effet positif sur l'acétique aqueuse et la pression ont un effet négatif sur le CO<sub>2</sub> comprimé L'eau. Un temps de solubilisation minimum à plus La taille des particules et les températures intermédiaires a déterminées (**Pardo-Castaño et Bolaños, 2019**).

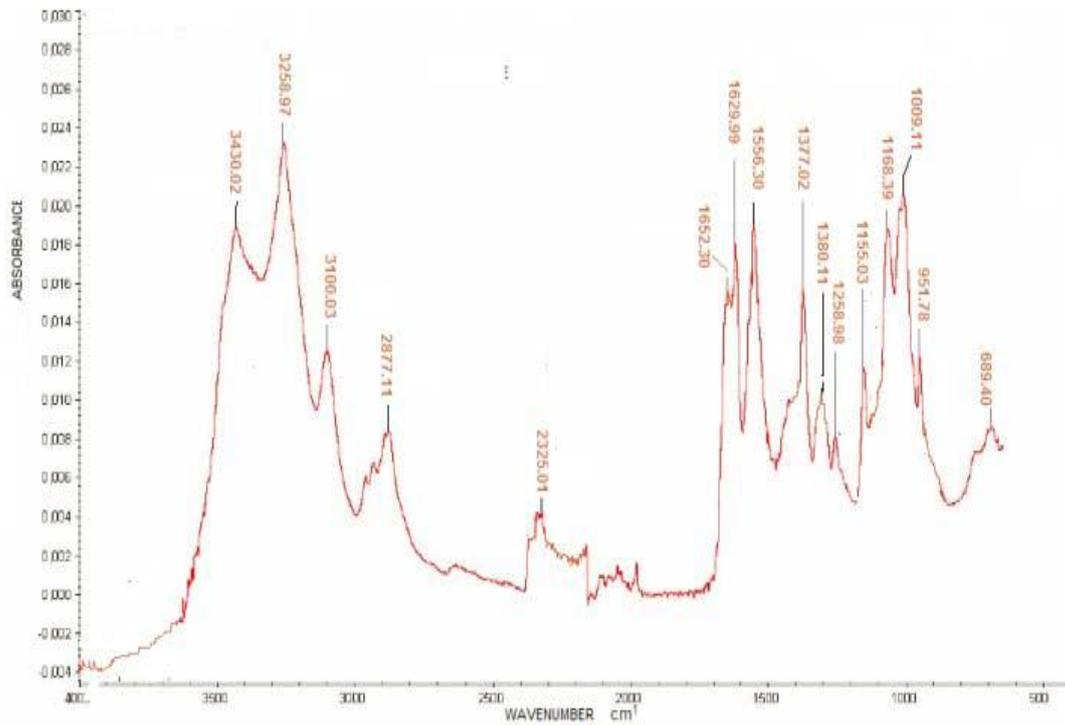
Plus le processus de désacétylation est répétée, plus il y a des groupements amine libre, plus le chitosane est soluble, et le DD peut atteindre les 95- 96 %. (**Hejari et Amiji, 2002**)

D'après ces résultats obtenus par les chercheurs nous concluons que le DD peut atteindre jusqu'à 90% avec les conditions optimales suivantes : une concentration de 40% NaOH, température 121°C pendant 3h dans l'autoclave et un rapport solide - liquide (1 :20/ g : ml). Lorsque la concentration de NaOH, le temps de réaction et la température augmentent, ils améliorent l'efficacité de désacétylation. Aboutissant à l'obtention du chitosane avec un DD élevé. De ce fait la méthode d'autoclave est plus performante pour la désacétylation de chitosane.

## **6. Analyse spectre FTIR :**

Un exemple représentatif de la chitosane est donné dans (**la figure 16**). Le DD a été calculé comme expliqué dans la partie expérimentale. Le spectre FT-IR de l'échantillon enregistré 16 pics dans la plage de 689,40 / cm et 3430,02 / cm. La région entre 3000 et 3500 / cm indiquent l'étirement hydroxyle vibration. Le pic à 2877,11 / cm représente la

caractéristique - CH- étirement des vibrations. La bande OH chevauche la bande d'étirement de NH. Dans la région 1155,03 / cm associé à l'étirement de C = O. C'est aussi observé Il est intéressant de noter que le pic d'absorption du chitosane à 1629,99 cm-1 correspondant à la bande chitosane NH<sub>2</sub>, et la bande à 1652,30 cm-1 correspond à l'amide I étirement de C = O. (Youcefi et Riazi, 2012)



**Figure 16:** FTIR du chitosane préparé.(Youcefi et Riazi, 2012)

## 7. Analyse par rayon X :

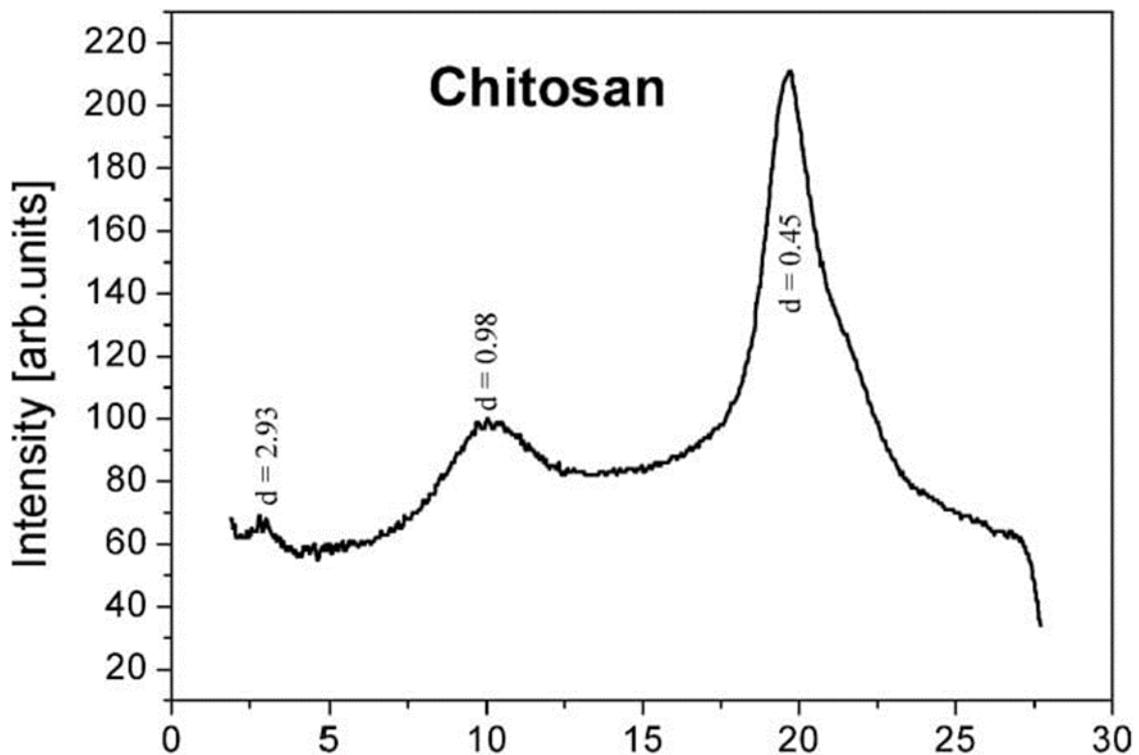
Différentes études ont permis de distinguer les structures cristallines du chitosane. Une analyse par diffraction des rayons X appliquée pour détecter la cristallinité de chitosane obtenue, il y a deux types de cristallinité différentes type I à un faible DA 64%, type II à forte DA 90%. (Samuels, 1981). De plus, l'étude de (Ogawa, 1991) montre que le chitosane hautement cristallisé avec un motif de fibres appelé polymorphe "L-2". Il a suggéré que "L-2" est similaire à la "forme II" de Samuels. (Ogawa, 1991) a étudié l'effet du chauffage de la suspension du chitosane sur ses propriétés: il a observé que le chitosane de faible poids moléculaire ou degré d'acétylation peut être cristallisé par élévation de température de la suspension. Lorsque le degré d'acétylation augmente, il devient difficile de produire des formes cristallines. Selon (Jaworska et al., 2003) la chitine

complètement acétylée (DA=100 %) a été trouvée plus cristallisée que la chitine partiellement désacétylée.

(Muzzarelli et al., 2004) constate que le schéma WAXD de chitosane a montré deux pics, un pic de moyenne intensité à  $10^\circ$  et un pic de grande intensité à  $20^\circ$  pourrait être dû à l'hydroxyde de sodium résiduel piégé à l'intérieur de chitosane.

Dans le spectre de chitosane (figure 17), des pics trouvés à 0,45, 0,88 et 2,93 nm.

Les pics autour de  $2\theta = 10$  et  $2\theta = 20$  sont liés au cristal I et au cristal II dans la structure du chitosane et ces deux attributs des pics un haut degré de cristallinité.(Mohanasrinivasan et al., 2013).



**Figure 17:** Spectre de diffraction de rayon X de chitosane. (Muzzarelli et al., 2004)

# **CONCLUSION GENERALE**

Les travaux de recherche actuels sur le chitosane et ses applications montrent que le monde s'appuie plutôt sur les ressources renouvelables que l'on peut trouver en abondance pour les valoriser en raison de son intérêt chez les industries agroalimentaires.

Ce travail avait pour but l'optimisation des conditions de l'extraction de chitosane à savoir : la concentration de (HCl, NaOH), la température de réaction, le temps d'agitation et le rapport solide /liquide en utilisant un plan d'expérience. Le plan élaboré par nos soins après de longues recherches et concertations avec les experts du domaine n'a pas pu être réalisé vu les contraintes actuelles à savoir la pandémie du COVID-19 donc notre étude s'est faite sur l'étude d'articles s'inscrivant dans le même contexte.

La synthèse des résultats des articles montre que l'extraction du chitosane est très influencée par les facteurs étudiés à savoir ; une déminéralisation avec une température de 50°C, concentration d' HCl de 1.1 M et un temps de réaction supérieur à 3h avec un rapport - liquide (1 :20/g : ml). Une déprotéinisation avec 2.5 M de NaOH, une température de 75°C dans un temps de réaction de 6h et un rapport solide - liquide (1 :20 /g : ml). En fin, la désacétylation peut être optimisée à une concentration de 40% NaOH, température 121°C et un temps de 3h dans l'autoclave avec un rapport solide - liquide (1 :20/ g : ml).

Les analyses physico chimiques des travaux antérieurs montrent des résultats satisfaisants à savoir un taux de protéines et de cendres très faible et un DD plus important pouvant atteindre 90%.

On aurait souhaité développer davantage cette exploration malheureusement les conditions actuelles dans le pays avec la propagation du COVID - 19, ne le permettent pas pour la réalisation de la partie pratique de ce mémoire.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**

**Référence bibliographique :**

**A**

**Abdou E S., Nagy S A. et Elsabee M Z., 2007** - Extraction and characterization of chitin and chitosan from local sources. *Bioresource Technology*, 99 (2008): 1359-1367.

**Abdelmalek B E., Sila A., Haddar A., Bougatef A. et Ali M., 2017** - Chitin and chitosan from squid gladius: biological activities of chitosan and its application as clarifying agent for apple juice. *Int. J. Biol. Macromol.*, 104 : 953–962.

**Abdullah Q H., Zamri A I., Chilek T Z., Ahmad F., Abd Razak S B. et Farhaten W N., 2019** - Optimization of chitosan extracted from *Matuta lunaris* shells by using response surface methodology (RSM). *Asian J Agric & Biol* :100-110

**ADEME, 2006** - Direction des Energies Renouvelables, des Réseaux et des Marchés Energétiques Hilaire.

**Austin P R., Brine C J., Castle J E. et Zikakis J P., 1981** - Chitin: New facets of research. *Science*, 12: 749-753.

**Akouche N., 2014** - Influence des conditions opératoires sur le rendement d'extraction du Chitosane. Application pour la libération d'un principe actif. Mém. Master de génie des procédés pharmaceutiques, Université Sétif, 83-38 P.

**Aljawish A., 2013** - Fonctionnalisation enzymatique de chitosane par des composés phénoliques : évaluation des propriétés biologiques et physico-chimiques de ces nouveaux biopolymères. Mem. Doctorat Procédés Biotechnologiques et Alimentaires, Université de Lorraine, 302 P.

**Ali M., Shakeel M. et Mehmood K., 2019** - Extraction and characterization of high purity chitosan by rapid and simple techniques from mud crabs taken from Abbottabad. *Pak. J. Pharm. Sci.*, 32 (1) : 171-175.

**Al Sagheer F A., Al-Sughayer M A., Muslim S. et Elsabee M Z. 2009** - Extraction and characterization of chitin and chitosan from marine sources in Arabian Gulf. *Carbohydrate Polymers*. 77: 410–419.

**Arannaz I., Mengibar M., Harris R., Paños I., Miralles B., Acosta N., Galed G. et Heras A., 2009** - Functional Characterization of Chitin and Chitosan. *Current Chemical Biology*. 3 : 203-230.

**Arbia W., Arbia L., Adour L. et Amrane A., 2013** - Chitin Extraction from Crustacean Shells Using Biological Methods. *Food Technol. Biotechnol.*, 51 (1) : 12–25.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

---

**Athanasopoulos L., Jecu E., Tenciu M., MoCanu E., Nistor V., Simionova I A. et Chioveanu M C., 2019** - The use of parasiticide treatments in carp larviculture.(Scientific papers), vol. LII (3)

### B

**Badaoui F., 2012** - Comportement Rhéologique De Solutions De Biopolymères. Application au Chitosane, au Poly (vinyle alcool) et à leurs mélanges. Mém. Magister. Génie des polymères, Université Boumerdes, p.13.

**Bastiaens L., Soetemans L., D'Hondt, E. et Elst K., 2019** - Sources of Chitin and Chitosan and their Isolation. Chitin and Chitosan, 1–34.

**Benhabiles M S., Drouiche N., Lounici H., Pauss A. et Mameri N., 2013** - Effect of shrimp chitosan coatings as affected by chitosan extraction processes on postharvest quality of strawberry. Food Measure, 7: 215-221.

**Benabbou R., 2009** – Développement et caractérisation defilms antimicrobiens pour la biopréservation des produits marins prêts à consommer. Mém. Doctorat, UNV , Laval.

**Bornet A. et Teissedre P L., 2005** -Application and interest of chitin, chitosan and their derivatives in enology. J. Int. Sci. Vigne Vin. France. 39 (4) : 199-207

**Boualem Z., et Hocine A., 2018** -Valorisation biotechnologique des coproduits de crevette rouge *Aristeus antennatus* (Risso, 1816): Etude du pouvoir antioxydant et antimicrobien du chitosane. Mém. Maser en Hydrobiologie marine et Continentale, Univ de Mostaganem, 42 P.

### C

**Casadidio C., Peregrina D V., Gigliobianco M R., Deng S.,Censi R. et Martino P., 2019** -Chitin and Chitosans: Characteristics, Eco-Friendly Processes, and Applications in Cosmetic Science.Mar. Drugs, 17: 369.

**Chang K L B. et Tsai G., 1997** - Response Surface Optimization and Kinetics of Isolating Chitin from Pink Shrimp (*Solenoceramellantho*) Shell Waste. J. Agric. Food Chem, 45 (5): 1900-1904.

**Crooke W M. et Simpson W E., 1971** - Determination of Ammonium in Kjeldahl Digests of Crops by an Automated Procedure. Sci. FdJ. Agric, Vol. 22: 9-10.

**Crini G., 2019** -Historical review on chitin and chitosan biopolymers. Environ ChemLett. 17: 1623-1643.

**Crini G. et Badot P., 2008** -Application of chitosan, a natural amino polysaccharide, for dye removal from aqueous solutions by adsorption processes using batch studies: A review of recent literature. Polymer. Science. 33: 399-447.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

---

### D

**Drugs M., 2015** -Activité antimicrobienne et antifongique : Chitin and Chitosan Preparation from Marine Sources. Structure, Properties and Applications. 13: 1133-1174.

**Dagnelie P., 2008** -Le plan d'expérience évolue. Revue Modulad, 38 : 13-36.

**Develay M., 1989** -Sur la méthode expérimentale. Aster, 8 : 4-14.

### E

**El Knidri H., Belaabed R., Addaou A., Laajeb A. et Lahsini A., 2018** - Extraction, chemical modification and characterization of chitin and chitosan. International Journal of Biological Macromolecules, 120: 1181–1189.

**El Knidri H., Belaabed R., Addaou A., Laajeb A. et Lahsini A., 2016** - Eco-friendly extraction and characterization of chitin and chitosan from the shrimp shell waste via microwave irradiation. Process Safety and Environmental Protection, 104 : 395-405.

### J

**Jardine A. et Sayed S., 2017** - Valorisation of chitinous biomass for antimicrobial applications. 6th International Conférence on Green Chemistry, Vénice (Italie), Du 4 au 8 Septembre 2016, UNV. Stckholm ; p. 2.

**Jaworska M., Sakurai K., Gaudon P. et Guibal E., 2003** - Influence of chitosan characteristics on polymer properties. I: Crystallographic properties. Polym Int, 52 : 198–205.

### G

**Gérin M., Gosselin P., Cordier S., Viau C., Quénel P. et Dewailly E., 2005** – Environnement et santé publique Fondement et pratique. Ed. Tec, Canada, 1062 P.

**Goupy J., 1999**-Plans d'expériences pour surfaces de réponse. Ed. Dunod. Paris, p.p.13-15.

**Goupy J., 2006** - Les Plans d'expériences. Ed. Modulad.

**Gendre L., Savary A, et Soulier B., 2009** -Les plans d'expériences. <http://eduscol.education.fr/sti/si-ens-cachan/>

## *REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE*

---

### **H**

**Halla N. et Chaib K., 2017** - Contribution à purification de la chitine à partir des coproduits de crevette rouge: caractérisation des produits et optimisation de procédé. Mém.Master, Hydrobiologie et continentale, Mostaganem, 120. P

**Hamed I., Özogul F. et Regenstein J M., 2016** - Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitooligosaccharides). Trends in Food Science & Technology, 48: 40 -50.

**Hejazi R. et Amiji M., 2003** - Chitosan-based gastrointestinal delivery systems. Journal of Controlled Release, 89: 151–165.

**Hijazi N., 2014** - Développement de composites nanostructurés à base de biopolyesters et de nanoparticules de chitosane générées par des procédés assistés par CO<sub>2</sub> supercritique. Mém. Doctorat. Génie des procédés et de l'environnement, Univ de Toulouse, 182 P.

### **K**

**Kumar S. et Murugesan K., 2020** - Optimization of geothermal interaction of a double U-tube borehole heat exchanger for space heating and cooling applications using Taguchi method and utility concept. Geothermics, 83 : 101723

**Kumar M Y. et Ravi A., 2017**–Extraction and characterization of chitosan from shrimp waste for application in the feed industry. International Journal of Science, Environment and Technology, 6(4) : 2548 – 2557.

**Kumar R., 2000** - chitin and chitosane application M. N. V. React. Function polymer, 46 : 1-27.

**Kurita K., 2006**-Chitin and chitosan: functional biopolymers from marine crustaceans, Mar. Biotechnol, 8: 203.

**Kashyap P L., Xian X. et Heiden P., 2015** - Chitosan nanoparticle based delivery systems for sustainable agriculture. International Journal of Biological Macromolecules, 77: 36–51.

**Kurita K., 2001** - Controlled functionalization of the polysaccharide chitin. Prog Polymer Sci, 26:1921-1971.

### **L**

**Lundstedt T., Seifert E., Abramo L., Thelin B., Nystroim A., Pettersen J. et Bergman R., 1998** - Experimental design and optimization. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 42: 3-40.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

---

**Lower E D., 1984** – Polymers from the Sea chitin and chitosan. Manufacturing chemist, 55(10): 47-49.

### M

**Marinela C., Vargas C., Molina Z., Vargas B., Monroy R. et Soto M., 2018** - Evaluation Of Industrial Processes To Obtain Chitin And Chitosan. Presentation At Congress Or Conference (Article), He Sixteen LACCEI International Multi-Conference For Engineering, Education And Technology "Innovation, Education, And Inclusion"

**Morin-Crini N., Lichtfouse E., Torri G. et Crini G., 2019** - Applications of chitosan in food, pharmaceuticals, medicine, cosmetics, agriculture, textiles, pulp and paper, biotechnology, and environmental chemistry. Environmental Chemistry Letters, 17 (4) : 1667 - 1692.

**Muzzarelli C., Francescangeli O., Tosi G. et Muzzarelli R A A., 2004** – Susceptibility of dibutyryl chitin and regenerated chitin fibers to deacetylation and depolymerization by lipases. Carbohydrate Polymer, 56: 137-146.

**Mohanasrinivasan V., Mishra M., Paliwal J S., Singh S., Selvarajan E., Suganthi V. et Devi C S., 2013** - Studies on heavy metal removal efficiency and antibacterial activity of chitosan prepared from shrimp shell waste. Biotech, 4: 167-175.

**Mohammed M H., Williams P A. et Tverezovskaya O., 2012** - Extraction of chitin from prawn shells and conversion to low molecular mass chitosan. Food Hydrocolloids, 31 : 166-171.

### N

**Nessaa F., Masumb S M, Asaduzzamana M , Roy S K , Hossaina M M. et Jahanc M S., 2010** - A process for the preparation of chitin and chitosan from prawn shell waste. Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research, 45(4) : 323-330.

**Nugraha E ., 2006** -Développement de films biodégradables à base de chitosane : Etude du mélange chitosane/ PLA, de la plastification et de la compatification et de la comptabilisation a Reims.

### O

**Ogawa K., 1991** - Effect of Heating an Aqueous Suspension of Chitosan on the Crystallinity and Polymorphs. Agric Biol Chem, 55: 2375–9

### P

**Pădurețu C C., Isopescu R D., Gîjiu C L., Rău I., Apetroaei M R. et Schröder V., 2019** - Optimization of chitin extraction procedure from shrimp waste using Taguchi

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

---

method and chitosan characterization. *Molecular Crystals and Liquid Crystals*, 695 (1) : 19-28

**Pourmortazavi S M., Sahebi H., Zandavar H. et Mirsadeghi S., 2019-** Fabrication of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles coated by extracted shrimp peels chitosan as sustainable adsorbents for removal of chromium contaminates from wastewater: The design of experiment. *Composites Part B: Engineering*, 175 : 107130

**Peter M G., 2002 -** Chitin and chitosan from animal sources. *Biopolym*, 6: 481

**Pardo-Castaño C. et Bolaños G., 2019-** Solubility of chitosan in aqueous acetic acid and pressurized carbon dioxide-water: experimental equilibrium and solubilization kinetics. *The Journal of Supercritical Fluids*, 151: 63-74

### R

**Rinaudo M., 2006 -**Chitin and chitosan: Properties and applications. *Prog Polymer Sci*, 31: 603–632.

**Rinaudo M., 2012 -**Physical Properties of Chitosan and Derivatives in Sol and Gel States. *Targeting and Polymer Therapeutics*, 23 - 43.

### S

**SaidAl Hoqani H A., AL-Shaqsi N., Hossain M A. et Al Sibani M A., 2020 -** Isolation and optimization of the method for industrial production of chitin and chitosan from Omani shrimp shell. *Carbohydrate Research*, 492 : 108001.

**Samuel R J., 1981 –** Solid state characterization of the structure of chitosan films. *Journal of Polymer Science*, 19 : 1081-1105.

**Sandrine K., 2004 -** Application de la méthodologie des plans d'expériences et de l'analyse de données à l'optimisation des processus de dépôt. *Mém. Doctorat. Electronique des hautes fréquences et optoélectroniques*, Univ de Limoges, 204 P.

**Sarode S., Upadhyay P., Khosa M A., Mak T., Shakir A., Song S. et Ullah A., 2018 -** Overview of wastewater treatment methods with special focus on biopolymer chitin-chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*.

**Sedaghat F., Yousefzadi M., Toiserkani H. et Najafipour S., 2017 -** Bioconversion of shrimp waste *Penaeus mercurialis* using lactic acid fermentation: an alternative procedure for chemical extraction of chitin and chitosan. *Int. J. Biol. Macromol*, 104 : 883–888.

**Shahidi F. et Abuzaytoun R., 2005 -** Chitin, chitosan, and co-products: chemistry, production, applications, and health effects. *Adv Food Nutr*, 49: 93.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE**

---

**Shahidi F et Synowiecki J ., 1991** - Isolation and characterization of nutrients and value-added products from snow crab (*Chionoecetes opilio*) and shrimp (*Pandalus borealis*) processing discards. *J Agric food chem*, 39 :1527-1532.

**Sy Mohamad S F., Said F M., Abdul Munaim M S., Mohamad. S et Wan Sulaiman M A., 2020** - Application of experimental designs and response surface methods in screening and optimization of reverse micellar extraction. *Critical Reviews in Biotechnology*, 1549-7801.

### **T**

**Taokaew S., Zhang X., Chuenkaek T. et Kobayashi T., 2020** - Chitin from fermentative extraction of crab shells using okara as a nutrient source and comparative analysis of structural differences from chemically extracted chitin. *Biochemical Engineering Journal*, 107588

**Truong T O., Hausler R., Monette F. et Niquette P., 2007** - Valorisation des résidus industriels de pêches pour la transformation de chitosane par technique hydrothermo-chimique. *Sciences de l'eau*, 20(3) : 253-262.

**Tolaimate A., Desbrières J., Rhazi M., Alaguic A., Vincendon M. et Vottero P., 2000** -On the influence of deacetylation process on the physico-chemical characteristics of chitosan from squid chitin. *Polymer*, 41: 2463 - 2469.

**Tolaimate A., Desbrieres J., Rhazi M. et Alaguic A., 2003** -Contribution to the preparation of chitins and chitosans with controlled Physico-chemical properties. *Polymer*, 44: 7939 - 7952.

**Treuillet D., Driouchi D. et Ribereau P., 2004** -Ajustement des paramètres d'une chaîne de traitements d'images par un plan d'expériences factoriel fractionnaire 2k-p. *Traitement du signal*, 21 (2) :141-155.

**Tyliszczak B Z., Drabczyk A., Kramarczyk S K. et Kupiec A S., 2020** - Sustainable Production of Chitosan. *Studies in Systems, Decision and Control*, 45-60.

### **V**

**Vaillé J. et Goupy J., 2006** - Construire et interpréter un Plan d'expériences factoriel complet. *Modulad*, 35: 1-5.

**Yadav M., Goswami P., Paritosh K., Kumar M., Pareek N. et Vivekanand V., 2019** - Seafood waste: a source for preparation of commercially employable chitin/chitosan materials. *Bioresources and Bioprocessing*, 6

### **Y**

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE**

---

**Youcefi F. et Riazi A., 2012**-Extraction, Physicochemical Characterization and in Vitro Antioxidative Potential of Chitosan in Shrimp Shell Waste from Beni Saf Sea, Algeria. *International Journal of Science and Research*, 3: 955-959.

**Younes 1. et Rinaudo M., 2015**-Chitin and Chitosan Preparation from Marine Sources Structure, Properties and Applications. *Mar Drugs*, 13 : 1133-1174.

**Youn D K., No H K. et Prinyawiwatkul W., 2013** - Preparation and characteristics of squid pen b-chitin prepared under optimal deproteinisation and demineralisation condition. *International Journal of Food Science and Technology*, 48: 571 - 577.

**Yong C., Bond Y., Hui C. et Talib A., 2018** - Extraction and physicochemical characterization of chitin and chitosan from *Zophobasmoriolarvae* in varying sodium hydroxide concentration. *Int. J. Biol. Macromol.* 108 : 135–142.

### **W**

**Waldeck W., Heidenreich E., Mueller G., Wiessler M., Tóth K. et Braun K., 2012**-ROSmediated killing efficiency with visible light of bacteria carrying different red fluorochrome proteins. *J Photochem Photobiol* 109 : 28–33.

**Wang W., Meng Q., Li Q., Liu J., Zhou M., Jin Z. et Zhao K., 2020** - Chitosan Derivatives and Their Application in Biomedicine. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(2): 487.

### **Z**

**Zemmouri H., 2008** - Utilisation du chitosane comme agent flocculant dans le traitement des eaux. *Mém. Magister Ecole Nation. Poly tech, Alger*, 98p.

[https://www.worldcat.org/search?q=au%3ALinder%2C+Richard.&qt=hot\\_authr](https://www.worldcat.org/search?q=au%3ALinder%2C+Richard.&qt=hot_authr).

<http://www.aps.dz/economie/90454-environnement-plusieurs-actions-menees-pour-la-reduction-de-la-pollution-industrielle>.

## RESUME

Le chitosane est une substance biodégradable d'origine naturelle obtenue à partir de déchets de coproduits de crevettes par un processus chimique impliquant la déminéralisation, la déprotéinisation et la désacétylation. La présente étude consistait à optimiser et d'évaluer les conditions de production de chitosane et de les caractériser. Les expériences ont porté sur les effets des interactions de Cinq facteurs. Notre résultat est fait sur l'étude des articles s'inscrivant dans le même contexte. D'après La synthèse des résultats des articles, on peut conclure que : Les valeurs optimales obtenues expérimentalement une déminéralisation avec une concentration d'HCL (1.1N), de rapport s / l (1 : 20), de température d'agitation (50°) pendant (3h). La méthode de Kjeldhal est la meilleure pour déterminer le taux de protéines avec une concentration d'NAOH (2.5) à une température (75°) pendant (6h) avec un rapport (1 :20). La valeur la plus élevée de DD (90%) sous condition optimisé de (40%) d'hydroxyde de sodium à (121°) C pendant (3h) dans l'autoclave avec un rapport solide - liquide (1 :20 / g : ml). Les analyses qualitatives permettent de confirmer la pureté et les caractérisations physicochimiques du chitosane. La fabrication de chitosane concourt à l'amélioration de la préservation de la nature.

**Mots clé :** Chitosane, Optimisation, Plan expérimental, condition optimal.

## ABSTRACT

Chitosan is a biodegradable substance of natural origin obtained from shrimp by-product waste by a chemical process involving demineralization, deproteinization and deacetylation. The present study consisted of optimizing and evaluating the conditions for chitosan production and characterizing. The experiments focused on the effects of the interactions of five factors. Our result is made on the articles study in the same context. According to the synthesis of the results of articles, we conclude that: The optimal values obtained experimentally demineralization with a concentration of HCL (1.1N), of s / l ratio (1:20), of stirring temperature (50 °) during (3h). The Kjeldhal method is the best for determining the protein level with a concentration of NAOH (2.5) in a temperature (75 °) for (6h) with a ratio (1:20). The highest DD value (90%) under optimized condition of (40%) sodium hydroxide at (121 °) C for (3h) in the autoclave with a solid - liquid ratio (1: 20 / g : ml). Qualitative analyzes confirm the purity and physicochemical characterizations of chitosan. The manufacture of chitosan contributes to the improvement of nature conservation.

**Key words:** Chitosan, Optimization, Experimental design, The optimal condition

## المخلص:

الشيتوزان هو مادة قابلة للتحلل من أصل طبيعي يتم الحصول عليها من نفايات المنتجات الثانوية من الروبيان من خلال عملية كيميائية تنطوي على نزع المعادن وإزالة البروتين ونزع الصمغ. اشتملت الدراسة الحالية على تحسين وتقييم شروط إنتاج وتوصيف الشيتوزان. ركزت التجارب على تأثيرات تفاعلات خمسة عوامل. يتم تحقيق نتائجنا على دراسة المقالات في نفس السياق. بناء على تجميع نتائج المقالة ، خلص إلى أن: القيم المثلى التي تم الحصول عليها تجريبياً التنقية المعدنية بتركيز HCL (1.1N) ، بنسبة (1:20 / جم: مل) ، من درجة حرارة التحريك (50 درجة) خلال (3 ساعات). تعتبر طريقة Kjeldhal هي الأفضل لتحديد مستوى البروتين بتركيز 2.5 NAOH في درجة حرارة (75 درجة) لـ (6 ساعات) بنسبة (1:20). أعلى قيمة DD %90 تحت ظروف محسنة (40%) هيدروكسيد الصوديوم عند (121 درجة مئوية) لمدة (3 ساعات) في الأوتوكلاف بنسبة صلبة - سائلة (1 : 20 / جم: مل). تؤكد التحليلات النوعية النقاوة والخصائص الفيزيائية الكيميائية للشيتوزان. يساهم تصنيع الشيتوزان في الحفاظ على الطبيعة.

**الكلمات المفتاحية:** الشيتوزان، التحسين، التصميم التجريبي، الحالة المثلى.