



DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA MER ET DE L'AQUACULTURE

## MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

GUENDOUZE Nesrine et TOUMIA Kheira

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN HYDROBIOLOGIE MARINE ET CONTINENTALE**

**Spécialité: Ressources Halieutiques**

THÈME

Contribution à l'extraction de la chitine et de  
chitosane à partir d'un produit aquacole

Soutenue publiquement le /06/2023

DEVANT LE JURY

Président Dr. BELBACHIR. N

MCA

U. Mostaganem

Encadreur Dr. OULHIZ. A

MCB

U. Mostaganem

Examineur Dr. BENZAIT. H

MCB

U. Mostaganem

*Année universitaire 2022/2023*



## *Remerciements*

*Tout d'abord, nous remercions Dieu Tout-Puissant, qui nous a accordé la patience, le courage et la volonté de mener à bien ce mémoire.*

Nous voudrions exprimer nos sincères remerciements et notre gratitude à notre superviseur pour ce travail, Dr. OULHIZ. A, pour la confiance qu'elle nous a accordée et pour son acceptation d'encadrer ce travail, pour son aide, ses conseils, ses critiques et suggestions et pour la patience qu'elle nous a accordée et pour nous avoir consacré beaucoup de temps malgré ses nombreux engagements.

Nous remercions également Dr. BELBACHIR. N, d'avoir accepté la présidence de la commission d'évaluation et d'être restés à nos côtés et d'avoir été patients avec nous au cours des quatre dernières années en sa qualité de chef du département des sciences de la mer et de l'aquaculture.

Nous remercions également Dr. BENZAIT. H, qui a accepté d'examiner notre travail. Sans oublier les techniciens des laboratoires pédagogiques à l'ITA, notamment Mme Fatima du laboratoire de biochimie<sup>1</sup> ; Mme Rashida du laboratoire de biochimie<sup>3</sup> ; M<sup>er</sup>. Mohamed du laboratoire de microbiologie<sup>2</sup>, et le reste des techniciens au niveau de l'INES, notamment le laboratoire du professeur MEZALI (LPVRMLSM).

Nous adressons nos sincères remerciements à tous les professeurs à l'université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem et à tous mes collègues.

Et enfin, nous tenons à remercier tous ceux qui ont contribué à ce succès de près ou de loin.

*Merci beaucoup à tous*



## *Dédicace*

Nous dédions cet humble travail et le fruit de plusieurs années à tous ceux qui ont été notre raison d'être.


Ayez pitié seigneur, du père de ..... qu'est plus avec nous.

Nos dédicaces vont principalement à la mère de ..... pour son soutien continu tout le long

des années de ma vie et de mon parcours universitaire du début à la fin, pour ses grands sacrifices, pour son soutien financier et moral, pour lui avoir donné confiance, détermination, courage et sécurité, et pour ses conseils qui ne m'ont jamais quitté.

Nous disons à nos parents que ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous avez consacrés à nous éduquer et à nous former, et grâce à vous, nous avons atteint ce niveau d'étude, comme nous le dédions à nos frères et sœurs. Loin, dans l'achèvement de ce mémorandum

Et à toutes les personnes oubliés en citations nos collègues et amis du département des sciences de la mer et de l'aquaculture.



## Résumé

Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'extraction de la chitine et du chitosane à partir des écailles de la carpe commune (*Cyprinus carpio*). Pour ensuite étudier les caractéristiques les plus importantes des chitosanes (la solubilisation, composition en cendres, le degré d'acétylation et de désacétylation) ainsi que le pouvoir antifongique et antibactérien des chitosanes extraits des écailles de carpe commune par deux méthodes différentes (traitement chimique et traitement enzymatique de la chitine).

Nous avons remarqué que la méthode d'extraction chimique de la chitine est meilleure que la deuxième méthode d'extraction de la chitine (enzymatique), concernant le rendement massique du chitosane obtenu par désacétylation de la chitine (14,46 et 24,75 % respectivement) ainsi que le degré de désacétylation (89,53 et 80,73% respectivement) et contrairement pour le degré d'acétylation (10,47 et 19,27%). Malgré que le taux DD soit supérieur à 80%, la solubilisation des deux chitosanes est très faible (moins de 50%).

Et les résultats de l'activité antimicrobienne des deux chitosanes obtenus, montrent une résistance de la bactérie Gram (-) *E. coli* en présence du chitosane. Par contre, les deux chitosanes ont une action inhibitrice contre la croissance des souches étudiées, avec une sensibilité importante surtout pour *Conidia albican*, *Aspergillus brasiliensis* et la bactérie Gram (+) *Listeria monocytogenes*.

**Mots clés :** Ecailles, carpe commune, chitine et chitosane, acétylation et désacétylation, activité antimicrobienne.

**Abstract:**

This work is part of the extraction of chitin and chitosan from the scales of common carp (*Cyprinus carpio*). To then study the most important characteristics of chitosan (solubilization, ash composition, degree of acetylation and deacetylation) as well as the antifungal and antibacterial power of chitosan extracted from common carp scales by two different methods (chemical treatment and enzymatic treatment of chitin).

We noticed that the method of chemical extraction of chitin is better than the second method of extraction of chitin (enzymatic), concerning the mass yield of chitosan obtained by deacetylation of chitin (14.46 and 24.75% respectively) as well as the degree of deacetylation (89.53 and 80.73% respectively) and contrary for the degree of acetylation (10.47 and 19.27%). Although the DD rate is greater than 80%, the solubilization of the two chitosan is very low (less than 50%).

And the results of the antimicrobial activity of the two chitosan obtained, show a resistance of the bacterium Gram (-) *E. coli* in the presence of chitosan. On the other hand, the two chitosan have an inhibitory action against the growth of the strains studied, with a high sensitivity especially for *Condida albican*, *Aspergillus brasiliensis* and the Gram (+) bacterium *Listiria monocytogenes*.

**Key words:** Scales, common carp, chitin and chitosan, acetylation and deacetylation, antimicrobial activity.

## الملخص:

هذا العمل جزء من استخلاص الكيتين والكيروزان من حراشف سمك الشبوط الشائع. و من ثم دراسة أهم خصائص الكيروزان (الذوبان ، وتركيب الرماد ، ودرجة الأستلة ، ونزع الأستيل) وكذلك القوة المضادة للفطريات والمضادة للبكتيريا للكيروزان المستخرجة من قشور سمك الشبوط الشائع بطريقتين مختلفتين (المعالجة الكيميائية والمعالجة الإنزيمية للكيتين).

لاحظنا أن طريقة الاستخراج الكيميائي للكيتين أفضل من الطريقة الثانية لاستخراج الكيتين (الأنزيمية) ، فيما يتعلق بإنتاجية الكتلة من الكيروزان الذي تم الحصول عليه عن طريق نزع أستيل الكيتين (14.46 و 24.75% على التوالي) وكذلك درجة نزع الأستيل ( 89.53 و 80.73% على التوالي) والعكس لدرجة الأستلة (10.47 و 19.27%). على الرغم من أن معدل (DD) أكبر من 80% ، إلا أن ذوبان الكيروزان منخفض جداً (أقل من 50%) ونتائج النشاط المضاد للميكروبات لاثنين من الكيروزان ، أظهرت مقاومة جرثومة الجرام (-) الإشريكية القولونية في وجود الكيروزان. من ناحية أخرى ، فإن الكيروزان لهما تأثير مثبط ضد نمو السلالات المدروسة ، مع حساسية عالية خاصة بالنسبة لـ *Condida albican, Aspergillus brasiliensis* بكتيريا غرام (+) *Listiria monocytogenes*.

**الكلمات المفتاحية:** الحراشف ، الشبوط الشائع ، الكيتين والكيروزان ، الأستلة والخلع ، النشاط المضاد للميكروبات.

## Liste des figures

Figure 1: Structure chimique de la chitine (Olteanu et Enescu, 2007) .....	5
Figure 2: Structure chimique de la chitine (forme $\alpha$ et $\beta$ ). (Freepons, 1989) .....	5
Figure 3: Structure chimique du chitosane (Olteanu et Enescu, 2007). .....	6
Figure 4: Photo de la carpe commune (présent travail) .....	14
Figure 5: Principaux pays producteurs de <i>Cyprinus carpio</i> (Statistiques des Pêches FAO, 2006) .....	15
Figure 6: Voies de valorisation des co-produits de la mer (IFREMER, 2012) .....	17
Figure 7: A) la carpe commune, B) les écailles de la carpe (Présent travail). .....	19
Figure 8: L'étape de la déminéralisation. (Présent travail). .....	20
Figure 9: L'étape de la déprotéinisation (présent travail) .....	21
Figure 10: Extraction par voie enzymatique (Présent travail) .....	21
Figure 11: L'extraction de chitosane à partir de la chitine. (Présent travail) .....	22
Figure 12: schéma du protocole de l'activité antimicrobienne (OULHIZ, 2019). .....	25
Figure 13: Aspect final du chitosane obtenu, A) par voie chimique et B) par voie Enzymatique (présent travail). .....	27
Figure 14: Pouvoir antibactérien du chitosane et son action (zone d'inhibition) contre : .....	31

## Liste des tableaux

Table 1 : Quelques applications de la chitine et du chitosane (Crini et Badot, 2007) .....	11
Table 2: Les rendements massiques(en %) de l'extraction de la chitine et du chitosane pour chaque étape (chimique et enzymatique).....	27
Table 3: Degré d'acétylation et de désacétylation (en %) des deux chitosanes extraits .....	28
Table 4: Les pourcentages (en %) d'humidité et de cendre des deux chitosanes obtenus (Moyenne et écart-type).....	29
Table 5: Le taux de la solubilisation (en %) des deux chitosane obtenus. ....	29
Table 6: Le pouvoir antimicrobien du chitosane contre différentes souches pathogènes et leur diamètre d'inhibition (en cm).....	30



# Sommaire

Introduction : .....	1
I.1 Généralité sur la chitine et le chitosane.....	4
I.1.1. Aperçu historique .....	4
I.1.1.1. La Chitine : structure et caractéristiques .....	4
I.1.1.2. Le chitosane : structure et caractéristiques .....	6
I.1.1.3. Production de la chitine et du chitosane : .....	6
I.1.1.4. Propriétés biochimiques de chitosane .....	9
I.1.1.5. Applications de la chitine et du chitosane.....	10
I.2. Généralité sur la carpe : .....	13
I.2.1. Introduction : .....	13
I.2.2. La carpe commune <i>Cyprinus carpio</i> (Linnaeus, 1758) : .....	13
I.2.2.1. Taxonomie : .....	14
I.2.2.2. Origine et distribution dans différents pays du monde : .....	14
I.2.2.3. Reproduction : .....	15
I.3. Généralité sur les co-produits de la mer.....	17
I.3.1. Les voies de valorisation des co-produits marins.....	17
II. Matériel et méthodes .....	19
II.1. Prétraitement des échantillons.....	19
II.2. Protocole expérimental d'extraction de la chitine et du chitosane.....	19
II.2.1. Extraction chimique de la chitine .....	19
II.3. Calcul du degré d'acétylation (DA) .....	22
II.4. Test de solubilité à l'acide acétique .....	23
II. Résultats et discussion : .....	27
II.1. Rendement massique de l'extraction de la chitine et du chitosane : .....	27
II.2. Degré d'acétylation et de désacétylation du chitosane : .....	28
II.3. Analyse biochimique des écailles de la carpe commune : .....	29
II.4. Solubilité du chitosane : .....	29
II.5. L'activité antimicrobienne de chitosane : .....	30
Conclusion .....	33
Les références bibliographiques.....	35

# Introduction



**Introduction :**

La carpe commune *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) sous sa forme sauvage est un poisson d'eau douce qui peu atteindre, dans le maximum, une taille de plus d'un mètre, un poids de 25 à 30 Kg pour un âge de 40 ans (**Losange, 1999**). La carpe commune est entièrement recouverte de grandes écailles (**Duborgel, 1955**) présentant presque deux pour cent du poids total de l'espèce. Et étant donné que la dégradation des écailles est difficile dans la nature, leur valorisation en tant que coproduits est l'une des solutions clés, qui permettra de réduire la pollution environnementale.

Plusieurs travaux ont valorisés les écailles de poisson pour extraire un des biopolymères «chitine», considérée comme la source primaire pour l'obtention du chitosane (**Aboudamia et al., 2020**).

C'est dans ce contexte que l'objectif de la présente étude est d'extraire, de caractériser la chitine et le chitosane à partir des écailles de la carpe commune. La chitine est caractérisé par son degré d'acétylation qui est supérieur à 50%, au dessous de ce pourcentage, on parlera de chitosane qui est obtenu par désacétylation alcaline. Grâce à ces propriétés, le chitosane est fortement utilisé dans divers domaines, allant de la médecine, le génie chimique, la pharmacie, la nutrition, l'agriculture et l'environnement.

Ce travail s'organisera en trois chapitres :

- ✓ Le premier chapitre fait l'état de la revue bibliographique concernant des généralités sur la carpe commune *Cyprinus carpio*, sur les voies de valorisation des coproduits et sur la chitine et le chitosane.
- ✓ Le deuxième chapitre présente le matériel, les méthodes et les expérimentations d'extraire la chitine et le chitosane par deux voies (chimique et enzymatique). Pour ensuite tester l'activité antimicrobienne des chitosanes obtenus.
- ✓ Le troisième chapitre représente les résultats et discussion que nous avons obtenue.

Et en fin une conclusion qui achèvera ce document.

# **Chapitre I : Partie bibliographique**

---

# **Partie 1 : Généralité sur la chitine et le chitosane**

---

## **I.1 Généralité sur la chitine et le chitosane :**

### **I.1.1. Aperçu historique :**

La découverte de la chitine est attribuée à **Hachett (1799)** et au naturaliste français de Nancy, Henri **Braconnot (1811)**. En 1823, en étudiant la cuticule de l'insecte coléoptères, August Odier isolait ce même polymère et le nomma « chitine » à partir du grec « kitos » qui signifie l'enveloppe. Et en 1843, Jean-Louis Lassaigne a trouvé la présence d'azote dans la chitine, en travaillant avec l'exosquelette du papillon de vers à soie (*Bombix morii*). Ensuite, Georg Ledderhose a identifié la glucosamine et l'acide acétique comme unités structurales de la chitine en 1879, et Paul Gilson a confirmé que la glucosamine était l'unité répétée de la chitine en 1894 (**Rouget, 1859**).

Le chitosane a d'abord été obtenu à partir de la chitine par **Rouget (1859)**, lors de l'ébullition de la chitine dans une solution alcaline concentrée et en notant que le composé résultant était soluble dans les acides organiques. De plus, Hoppe-Seyler a confirmé en 1894 que le chitosane est la forme désacétylée de la chitine et lui a donc donné son nom actuel (**Yao et al., 2012**). La production de la chitine a débuté en 1920, mais la structure des biopolymères (chitine et chitosane) n'a été identifiée que 50 ans plus tard grâce à la cristallographie et la spectroscopie infrarouge (**Winterowd & Sandford, 1995**).

Depuis 1970 la production industrielle et l'utilisation de ces deux biopolymères, issus de ressources renouvelables, sont en constante augmentation (**Attila et al., 2009**). Actuellement, la production de la chitine et du chitosane à partir des carapaces de crabes et de crevettes est devenue économiquement rentable (**Kumar, 2000**).

#### **I.1.1.1. La Chitine : structure et caractéristiques**

La chitine (Fig. 1) est le biopolymère le plus abondant dans la nature après la cellulose. C'est un polysaccharide, plus précisément, un aminoglucopyranane relié par des liaisons covalentes  $\beta$  (1-4) (**Vincent et Wegst, 2004 ; Berezina, 2016**).

La présence des groupements acétamide confère à la chitine des fonctions biologiques telles que la biodégradabilité et la biocompatibilité, ce qui fait de ce biopolymère un matériau fonctionnel de grande importance (**Muzzarelli, 1977**). Entre 20 et 400 chaînes du polysaccharide s'associent par l'intermédiaire de liaisons hydrogènes pour créer la forme structurale du polysaccharide et donner naissance à des microfibrilles qui confèrent le rôle squelettique de la chitine (**Ruiz-Herrera et San-Blas, 2003**). La chitine possède également une grande stabilité structurale due à la présence de fortes liaisons hydrogène intra- et inter-moléculaires. La chitine se présente sous trois formes cristallines :  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$  et ces formes

diffèrent par l'arrangement de la chaîne polysaccharidique et la disposition des liaisons hydrogène (Peesant *al.*, 2003). L' $\alpha$ -chitine (Fig. 2) est la forme la plus stable et la plus abondante présente chez les champignons (Noishikiet *al.*, 2005). Elle est caractérisée par des chaînes antiparallèles constituant une structure cristalline régulière. Les liaisons hydrogène intermoléculaires attribuent au polymère une grande stabilité vis-à-vis des solvants et des solutions aqueuses. Cette solubilité dépend également de la source du polymère (Austin, 1984).

Concernant la  $\beta$ -chitine (Fig. 2), les macromolécules sont organisées sous un arrangement parallèle conduisant à des liaisons intermoléculaires de faible énergie. Dans ce cas, les groupements N-acétyl jouent le rôle d'espaceurs facilitant ainsi l'accès aux molécules d'eau à des fins d'hydratation et de formation de gel (Thomaset *al.*, 2013). En opposition avec l' $\alpha$ -chitine, la  $\beta$ -chitine a une grande affinité pour les solvants organiques et l'eau (Sannanet *al.*, 1976). Elle se trouve essentiellement dans les épines des diatomées et l'endosquelette de seiche (Noishikiet *al.*, 2005).

La  $\gamma$ -chitine a été identifiée dans les cocons des insectes (Atkins, 1985). Elle est principalement composée de deux couches parallèles et une antiparallèle. Sa force et sa résistance sont plus proches du type  $\beta$ . Les groupements N-acétyl jouent le même rôle dans ces deux arrangements (Rudall, 1969 ; Kenchington, 1976).

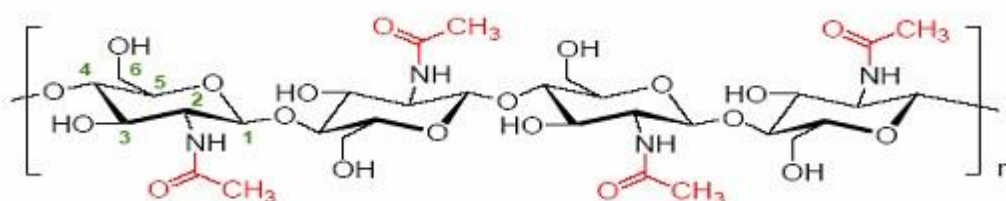


Figure 1: Structure chimique de la chitine (Olteanu et Enescu, 2007)

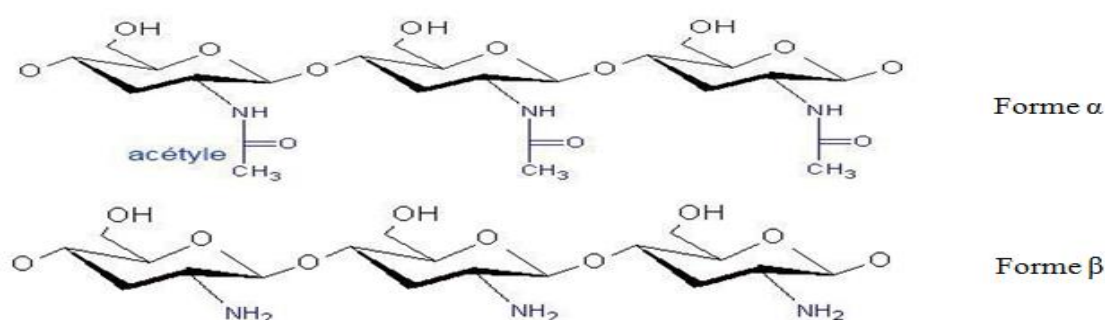
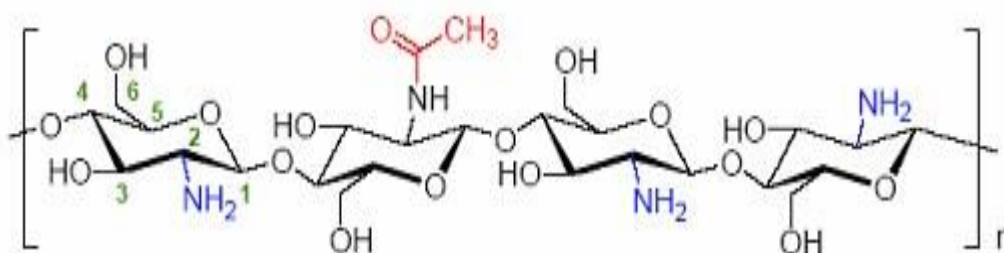


Figure 2: Structure chimique de la chitine (forme  $\alpha$  et  $\beta$ ). (Freepons, 1989)

### I.1.1.2. Le chitosane : structure et caractéristiques

Le chitosane (Fig.3) est un copolymère linéaire constitué d'unités D-glucosamine (GlcN) et N-acétyl-D-glucosamine (GlcNAc) reliées par une liaison  $\beta$ -(1-4) (figure I.3). Le terme «chitosane» est habituellement limité à toute chitine suffisamment N-désacétylée pour être soluble en milieu acide dilué. Pour parler du chitosane, il faut que la chitine soit désacétylée plus de 50% (Rinaudo, 2007 ; Rinaudo, 2008).

Le chitosane possède trois types de groupement fonctionnels réactifs, un groupement amine et deux groupements hydroxyles en positions C2, C3 et C6, respectivement. Grâce à ses groupements amine libres, ce composé possède des propriétés intéressantes très différentes de celles de la chitine. Le chitosane est soluble dans les acides faibles, il possède une charge positive alors que la plupart des polysaccharides sont chargés négativement (Rinaudo, 2006). Le chitosane issu des champignons a un degré de désacétylation de 60 à 90% et un poids moléculaire moyen de 1 à 2105 Da. Ces paramètres dépendent fortement de l'espèce fongique utilisée et des conditions de traitement appliquées au cours du processus d'extraction du chitosane (Ivshina *et al.*, 2009).



**Figure 3:** Structure chimique du chitosane (Olteanu et Enescu, 2007).

### I.1.1.3. Production de la chitine et du chitosane :

Les méthodes chimiques d'extraction impliquent l'utilisation d'acides et de bases fortes pour dissoudre les carbonates de calcium et protéines (El Knidriet *et al.*, 2018). Les méthodes biologiques d'extraction réussissent à maîtriser les conditions spécifiques qui peuvent être contrôlées. (Tyliszczak *et al.*, 2020).

#### I.1.1.3.1. Extraction par voie chimique :

L'extraction chimique consiste en un traitement acide pour la déminéralisation et un traitement alcalin pour la déprotéinisation. Les autres composés minoritaires sont supposés être entraînés au cours de ces deux réactions (Rao et Stevens, 2005). Ce procédé chimique



consomme de grandes quantités d'eau et de réactifs (principalement l'acide chlorhydrique, l'hydroxyde de sodium et des agents de blanchiment) (**Criniet al., 2009**).

**a) 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 ou HCOOH ; Cependant, le HCl semble être le réactif préféré. (**Arabiaet 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 Sagheeret 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**). Alors que, **Yong et al. (2018)** décrit que l'extraction de la chitine se fait par 1,0 M de solution d'acide chlorhydrique à 35°C pendant 30 min seulement. Les traitements par l'acide, à des températures plus élevées, entraîne la dégradation du polymère (**Marinelaet al., 2018**).

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**) :



**b) 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 Sagheeret al. (2009)** montre que la déprotéinisation de la chitine est effectuée avec une solution de NaOH 1 M avec un rapport solide - liquide (1:20 / g:ml) à 70°C, pendant une nuit. En effet une étude réalisée par **EL Knidriet al. (2016)** montre 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.

**c) Le blanchiment:**

Pour les applications industrielles, la chitine obtenue à partir des ressources crustacées doit être décolorée après les traitements acides et alcalins (**No et al.,1989**). Le pigment dans les

carapaces de crustacées forme un complexe avec la chitine. Il peut être enlevé par des réactifs oxydants tels que : l'éthanol, l'éther (Young *et al.*, 2007), solution d'hypochlorite de sodium NaOCl (suyatama, 2006), peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Brine et Austin, 1981). Durant le processus de blanchiment, le réactif utilisé ne doit pas avoir un effet sur les propriétés physico-chimiques de la chitine et du chitosane (Bensaha, 2010). Du *et al.*, (2009) privilégient l'éthanol pour le blanchiment.

**d) 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) ont montrés que le traitement de désacétylation consiste à utiliser une solution à 40% de NaOH avec un rapport solide – liquide (1 :15/ g : ml). Le temps de contact est de 2 h sous agitation (1 h à température ambiante et 1 h à 100° C).

**I.1.1.3.2. Extraction par voie biologique :**

À l'inverse, un procédé biologique de purification de la chitine répondrait mieux aux enjeux actuels de développement durable. Son empreinte sur l'environnement devrait être réduite car les volumes d'effluents chargés en réactifs chimiques sont plus faibles. Ses conditions plus douces devraient préserver la qualité de la chitine. Par les voies biologiques, les taux de protéines et minéraux résiduels sont plus importants par rapport à l'emploi de l'extraction chimique. Des traitements complémentaires sont souvent nécessaires pour améliorer le degré de pureté en chitine. Enfin, les temps de réaction sont beaucoup plus longs que par la voie chimique (Le Roux, 2012).

Les processus de déprotéinisation, déminéralisation et désacétylation signalés pour la production de chitine par des processus mécaniques enzymatiques et microbiens. Comme mentionné par (Sedaghatet *et al.*, 2017) la fermentation microbienne peut être considéré 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.

#### **I.1.1.4. Propriétés biochimiques de chitosane**

##### **I.1.1.4.1. Degré N-acétylation**

Le degré d'acétylation (DA) est un paramètre fondamental qui influence les propriétés des biopolymères chitineux. La détermination de DA est essentiel pour étudier la structure chimique, les propriétés des copolymères et la relation structure chimique- propriétés (**Kasaai, 2008**). Il est défini comme étant le nombre d'unités de glucopyranose de la chaîne de biopolymère ayant un groupement N-acétyl. Les groupements amines au niveau de C-2 sont parfaitement acétylés. Généralement, 5 à 15% de désacétylation est provoqué par le traitement alcalin lors du processus d'extraction de la chitine. On parlera de chitine lorsque le degré d'acétylation est supérieur à 70% (**Morimoto et al., 2002**).

##### **I.1.1.4.2. Activité antibactérienne du chitosane**

Le chitosane présente une activité antimicrobienne face aux différents groupes de microorganismes, bactéries, virus, champignons, et levures (**Chien et Chou, 2006**). En général, les moisissures et les levures sont les plus sensibles au chitosane suivies des bactéries. Seule, la fraction soluble en milieu acide (pH 5,5) présente une capacité antimicrobienne, aux pH supérieures, le biopolymère est insoluble, ce qui se traduit par une perte drastique de son efficacité (**Qin et al., 2006**).

L'activité antibactérienne du chitosane est influencée par de nombreux facteurs incluant l'origine biologique du chitosane, le pourcentage de désacétylation, le degré de polymérisation ou le poids moléculaire (PM) (**No et al., 2002**).

De plus, le degré de l'effet antimicrobien et le mode d'action varient en fonction de l'organisme ciblé (Gram+/Gram-). La réponse du microorganisme dépend de la structure chimique du chitosane utilisée et des conditions environnementales lors de l'interaction (**Cuero, 1999**).

Les propriétés fonctionnelles du chitosane sont influencées par le matériel brut utilisé pour sa production et peuvent varier, aussi en fonction des espèces, mais également au sein d'une même espèce au cours de variations saisonnières. Le chitosane provenant de crustacés démontre des mécanismes antibactériens plus diversifiés que le chitosane d'origine microbienne. Plus le chitosane est désacétylé, plus son activité antimicrobienne est forte, indiquant que les groupes fonctionnels pour l'inhibition de la croissance sont les groupes

aminés cationiques (Song et al., 2002;). Et aussi, plus la concentration en polymères de chitosane est élevée, plus l'activité antimicrobienne est observée (Zheng et Zhu, 2003).

#### **I.1.1.4.3. Solubilité de la chitine**

Malgré la similarité structurale, la chitine est insoluble dans les solvants usuellement utilisés pour la cellulose (solutions aqueuses d'hydroxyde de cuprammonium, de cupriethylenediamine et de cadoxen). Quelques autres systèmes de solvants exotiques, furent ainsi mis en place afin de contourner cette situation. On peut regrouper ces systèmes en trois catégories : les solutions aqueuses de sels neutres, les solvants acides, et les solvants organiques neutres. La chitine est biodégradable, elle est hydrolysée par une série d'enzymes telles les chitinases, le lysozyme et les glucanases (Pernet, 2009).

#### **I.1.1.5. Applications de la chitine et du chitosane**

La production et l'utilisation industrielle de la chitine et de chitosane augmentent continuellement depuis les années 1970. Actuellement, à cause de leurs caractéristiques telles que le poids moléculaire, la charge cationique, la formation des films et l'adsorption des métaux lourds, la chitine et le chitosane ont divers champs d'application qui s'étendent de l'agriculture, le traitement d'eau, la fabrication du papier et de produits de beauté, à l'industrie pharmaceutique et la biotechnologie.

**Table 1** : Quelques applications de la chitine et du chitosane (Crini et Badot, 2007)

<b>Domaines</b>	<b>Applications</b>
Agriculture	Protection des plantes ; augmentation des rendements de récolte (réduction de la croissance des mycètes phytopathologique) ; enduit de graine et d'engrais ; traitement du sol.
La technologie biomédicale	Activités biologiques (antifongique, antimicrobien, anti-infectieux) ; agent anti-tumoral ; effet hémostatique ; augmentation de la coagulation du sang ; favorisation de la croissance du tissu ; stimulation de la prolifération des cellules ; peau artificielle ; fils de suture/bandage, ophtalmologie ; lentilles de contact.
La biotechnologie	immobilisation des cellules et des enzymes ; matériaux stimulants de cellules ; matrice pour l'affinité ou les membranes.
La chimie industrielle	Purification d'eau (chélation des métaux) ; technologie de l'eau (floculation, absorption) ; traitement des boues ; membranes d'osmose inverse, membranes de filtration ; séparation des gaz ; production de films d'emballage biodégradables ; la catalyse.
L'industrie alimentaire	Régime alimentaire et fibre diététique ; activité hypocholestérolémie (liaison cholestérol, acides gras et mono glycérides) ; la conservation des nourritures de la détérioration microbienne ; la bioconversion pour la production de produits alimentaires à valeur additionnée ; rétablissement des déchets de la transformation des produits alimentaires ; clarification et désacidification des jus de fruit et des boissons ; agent émulsionnant ; stabilisant de couleur ; additives alimentaires des animaux.
Pharmaceutique	commandés de micro capsules (formant des gels et des capsules avec des polymères anioniques) ; transporteur des médicaments à libération contrôlée ; produits dermatologiques (traitement de l'acné).
Autres	textile (propriétés anti- bactériennes) ; pulpe et papier (résistance au mouillage) ; oenologie (clarification, désacidification) ; dentisterie (implants dentaires) ; photographie (papier)

## **Partie 2: Généralité sur la carpe**



## **I.2. Généralité sur la carpe :**

### **I.2.1. Introduction :**

Les poissons forment un groupe biologique très riche et très varié qui peut contenir, plus de 25000 espèces (**KHELIL, 1994**). Ils sont les premiers vertébrés apparus au Cambrien, Il y a plus de 505 à 550 millions d'année (**BOURDIAL, 2000**).

Les poissons qui vivent dans les eaux douces, sont environs 52 espèces au Maghreb dont 20 espèces environ en Algérie, reformés dans 21 genres et 14 familles.

En Algérie ces poissons peuplent les Oueds, les rivières, les lacs, les barrages, ils appartiennent systématiquement à la classe des Ostéichthyens, la sous classe des actinoptérygiens et au Super Ordre des Téléostéens. Ce dernier regroupe la quasi-totalité des espèces actuelles (**BOURDIAL, 2000**). L'espèce la plus connue est « la carpe commune » qui peut utiliser toutes les niches écologiques du milieu, tolérant des températures entre 18 et 30°C. C'est un animal qui peut s'adapté et résisté aux changements climatiques de la région de Mostaganem.

### **I.2.2. La carpe commune *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) :**

La carpe commune (Fig. 4) est une espèce de poissons téléostéens de la famille des cyprinidés. Le nom de « Carpe » peut aussi désigner plusieurs formes mutantes, hybrides et d'élevage plus ou moins domestiquées, avec par exemple la carpe cuir, la carpe miroir, ou la carpe koï qui est l'une des sous-espèces de poissons les plus anciennement domestiquées (**Balon, 1995**). *C. carpio*, possède une nageoire dorsale longue comportant un premier rayon épais et dentelé. Les nageoires ventrales sont situées en arrière des nageoires pectorales (Fig4) La carpe commune est entièrement recouverte de grandes écailles 35 à 40 sur la ligne latérale (**DUBORGEL, 1955**). La coloration est brune à reflets dorés, avec un ventre plus clair (du blanc crème au jaunâtre) (**MUUS et DAHLSTROM, 1991**).

Les carpes sauvages de 3 à 4 ans mesurent de 20 à 40 cm et pèsent de 300 à 1000 g. Le maximum dépasse rarement le mètre, le poids est de 25 à 30 Kg pour un âge de 40 ans (**LOSANGE, 1999**).



Figure 4: Photo de la carpe commune (présent travail)

#### I.2.2.1. Taxonomie :

La carpe appartient à l'ordre des Cypriniformes, c'est l'un des ordres les mieux représentés dans le monde avec 5 familles, pour 275 genres et environ 2662 espèces. (BELAUD, 1996).

La carpe commune appartient à l'embranchement des Vertébrés et à la classe des Ostéichthyens, elle fait partie de la famille des Cyprinidés.

<b>Règne</b>	Animal
<b>Embranchement</b>	Vertébrés
<b>Classe</b>	Ostéichtyes
<b>Sous Classe</b>	Actinoptérygiens
<b>Super Ordre</b>	Teléostéens
<b>Ordre</b>	Cypriniformes (Berg,1940)
<b>Famille</b>	Cyprinidae (Bonaparte,1832)
<b>Genre</b>	Cyprinus (Linnaeus, 1758)
<b>Espèce</b>	Carpio ( Linnaeus,1758)

#### I.2.2.2. Origine et distribution dans différents pays du monde :

La carpe était considérée comme un met luxueuse durant la moitié et la fin de la période romaine, et, au moyen âge, elle était consommée durant le jeun. Le poisson était gardé dans des étangs de stockage par les Romains, et plus tard dans des étangs construits par les monastères chrétiens. Chez les européens la carpe était élevée en monoculture. Les grands individus étaient sélectionnés comme des géniteurs. Depuis, le 12<sup>ème</sup> jusqu'à la moitié du 14<sup>ème</sup> siècle, une sélection involontaire a eu lieu constituant la première étape vers la domestication. La reproduction semi contrôlée en étangs naturels et l'élevage larvaire de carpe ont commencé au 19<sup>ème</sup> siècle en Europe. De nos jours, les carpes domestiquées sont



produites dans la plupart des zones d'élevage de carpe. Il y a environ 30 à 35 souches de carpes communes domestiquées en Europe. Plusieurs souches sont maintenues en Chine. Il y a quelques souches de carpe Indonésienne, qui n'ont pas encore été examinées et identifiées scientifiquement.



**Figure 5:** Principaux pays producteurs de *Cyprinus carpio*  
(Statistiques des Pêches FAO, 2006)

### **I.2.2.3. Reproduction :**

La reproduction des Cyprinidés a, en général, lieu au printemps en zone tempérée, les œufs étant les plus souvent de petite taille (**BILLARD, 1995**). La ponte se fait généralement sous une température de 18 à 20°C dans la végétation (**SCHLUMBEGER, 1997**). De juin à août, dans les eaux peu profondes, la femelle pond plusieurs milliers d'œufs adhésifs (environ 100 000 par kg de son poids). Le développement embryonnaire est bref et les larves, dès l'éclosion, doivent impérativement trouver une alimentation de petite taille (ciliés, rotifères puis petit crustacés) qui ne se trouve en quantité suffisante que lorsque la température de l'eau augmente (**BILLARD, 1995**).

## **Partie 3: Généralité sur les coproduits**



### I.3. Généralité sur les co-produits de la mer

On utilise comme définition des co-produits, les matières produites au cours des processus de fabrication des produits principaux. Dans le cas de la filière des produits de la mer et d'aquaculture, les co-produits générés sont composés des viscères, des têtes, des arêtes, des chutes de filetage et de la peau.

Ces co-produits sont générés tout au long de la filière : les pêcheurs peuvent par exemple étêter et éviscérer à bord une partie des captures, les halles à marée écartent de la vente le produit impropre à la consommation, les organisations de producteurs gèrent les invendus et enfin les mareyeurs, les préparateurs de plats cuisinés et les détaillants vont découper et préparer le poisson. On parle de déchet lorsqu'aucune voie de valorisation n'existe et que le sous-produit doit être détruit (Andrieux, 2004).

#### I.3.1. Les voies de valorisation des co-produits marins

Les co-produits de la mer qui sont valorisés aujourd'hui le sont presque exclusivement sous forme de farine, d'huile ou de hachis pour l'alimentation animale. Cette valorisation qui traite de grandes quantités de co-produits ne dégage qu'une faible valeur ajoutée. On parle de valorisation de « masse ». Il existe beaucoup d'autres solutions de valorisation qui aboutissent à des produits à plus haute valeur marchande. Cependant ce type de valorisation suppose bien souvent des co-produits de meilleures qualités et très spécifiques (OFIMER, 2007).

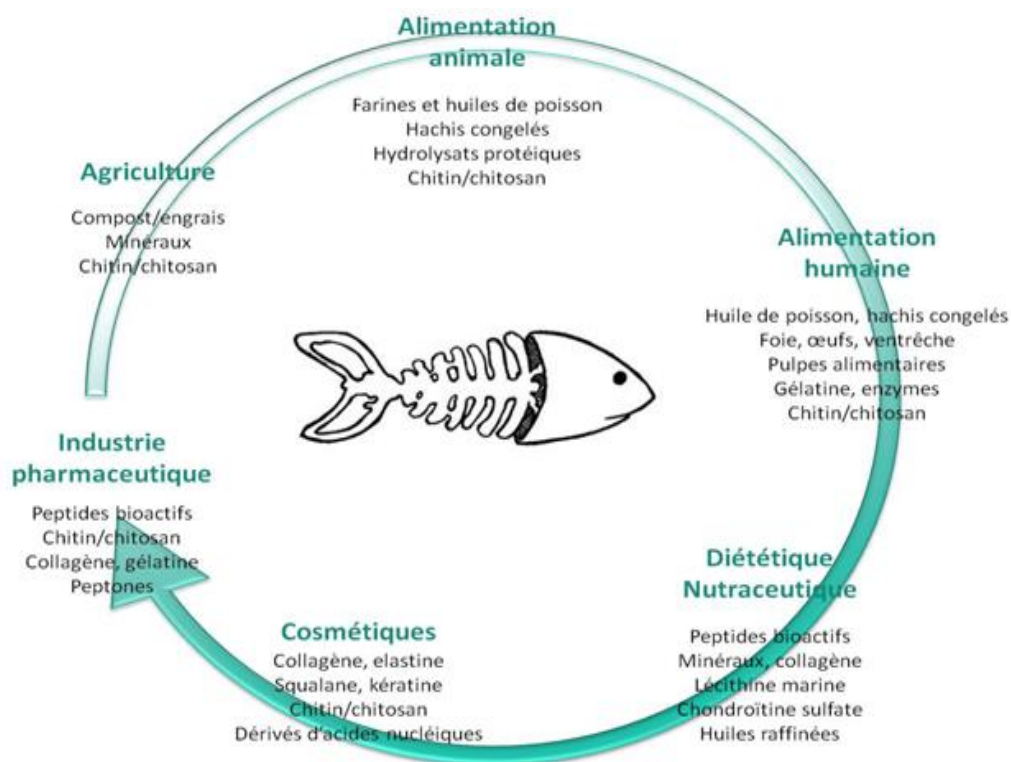


Figure 6: Voies de valorisation des co-produits de la mer (IFREMER, 2012)

**Chapitre 02 :**  
**Parie 1 : Matériel et méthodes**

---

## **II. Matériel et méthodes**

La présente étude expérimentale a pour objectifs de :

- ✓ Purifier la chitine à partir des coproduits de la carpe commune par deux voies différentes.
- ✓ Etudier l'activité antioxydante des deux chitosanes extraits des deux chitines.

### **II.1. Prétraitement des échantillons**

Pour notre recherche, nous avons travaillé sur la carpe commune "*Cyprinus carpio*" (Fig 7.A). L'échantillon a été apporté du marché d'Ain Tedles wilaya de Mostaganem. Les poissons ont été nettoyés et par un simple grattage nous avons collectés autant que possible des écailles. Les écailles récupérées ont été bien rincées et séchées dans une étuve à une température de 45°C pendant 24 heures (Fig 7.B).



**Figure 7: A) la carpe commune, B) les écailles de la carpe (Présent travail).**

## **II.2. Protocole expérimental d'extraction de la chitine et du chitosane**

### **II.2.1. Extraction chimique de la chitine**

De nombreuses méthodes ont été développées afin d'extraire la chitine à partir des carapaces de crustacés. De manière générale, elles consistent à éliminer les minéraux (déméralisation), les protéines (déprotéinisation) et les pigments (blanchiment). Dans notre cas on a utilisé la méthode d'extraction chimique pour extraire la chitine à partir des écailles de la carpe commune.

#### **II.2.1.1. Déméralisation**

La déminéralisation a pour but d'éliminer les minéraux qui sont présents dans les coproduits de crevettes et les écailles. Cette étape est généralement réalisée par un traitement acide sous agitation constante pour solubiliser le carbonate de calcium et le chlorure de calcium. Les acides les plus fréquemment utilisés sont l'acide chlorhydrique et l'acide formique. Les

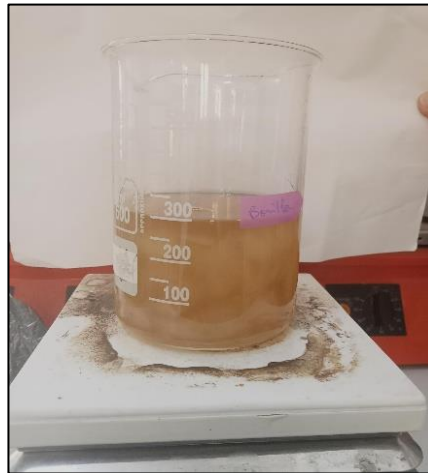
coproduits (carapaces de crevette et écailles de carpe) sèches en poudre sont traitées avec HCL (1N) et le rapport du solide au solvant est de 1:10 (p/v), c'est-à-dire 1 g de carapaces en poudres pour 10 ml de solvant, sous agitation constante, pendant 1 heure, à température ambiante pour extraire le maximum de la matière minérale dans ces coproduits (Kurita, 2006). Une fois la réaction est terminée, l'échantillon est filtré, ensuite rincer par l'eau du robinet plusieurs fois pour éliminer les traces d'HCL à la neutralité du pH, enfin met à l'étuve pour le séchage à 105°C pendant 48 h (Fig. 8).



**Figure 8:** L'étape de la déminéralisation. (Présent travail).

#### **II.2.1.2. Déprotéinisation**

A l'état naturel, la chitine se présente en association avec les protéines (Chitinoprotéine). Les protéines sont éliminées par un traitement basique à l'hydroxyde de sodium (NaOH). La déprotéinisation est faite par un traitement à 2,5 M NaOH au ratio 1:10 (p/v), c'est-à-dire les deux produits déminéralisés secs pour un volume de 10 fois de NaOH chacun, chauffé à 70°C pendant (Six heures pour les coproduits de crevette et trois heures pour les écailles de carpe) dans un erlenmeyer (Al Sagheeret al., 2009). Laver les retenus en continu, afin d'éliminer la soude résiduelle, et ce jusqu'à ce que le pH de l'eau du lavage atteigne la neutralité. Les deux chitines ainsi obtenu sont séchées à l'étuve à 35°C pendant 24 heures.



**Figure 9:** L'étape de la déprotéinisation (présent travail)

### **II.2.2. Extraction de la chitine par voie enzymatique**

La figure 10 montre le montage de l'appareil pour la réalisation de l'hydrolyse. Dans un bécher contenant un mélange d'écaillés et d'eau distillée bien mélangé (agitation continue pour augmenter la surface d'action de l'enzyme) est mit dans un bain marie (source de chaleur maintenue à 60°C). Lorsque les conditions de l'hydrolyse : 60°C et pH 8 sont maintenues pendant 10 min, 1,5 ml d'enzyme (Alcalase de la bactérie *Baccillus licheniformis*) est ensuite ajouté au mélange. L'hydrolyse dure trois heures. L'inactiver de l'hydrolyse se fait par la chaleur. Pour ce faire, le bioréacteur est placé dans un bain marie de 80°C pendant 20 minutes. Cette étape de notre recherche a été réalisée au niveau du laboratoire de « protection, valorisation des ressources marines littorales et systématique moléculaire » à l'INES-Université de Mostaganem.



**Figure 10:** Extraction par voie enzymatique (Présent travail).

### **II.2.3. Extraction chimique du chitosane (Désacétylation)**

Le résultat des étapes précédentes c'est un produit qui n'est pas soluble dans l'acide à faible concentration il s'appelle la chitine c'est un copolymère de glucosamine. Des traitements acides et basiques sévères catalysent la désacétylation (**Gizatulina, 2005**) et aboutissent au chitosane. Les deux chitosanes ont été obtenus par désacétylation de la chitine par une solution de NaOH concentrée à 40 %, selon un ratio (p/v) de 1:10 dans un bain d'huile à 140 °C pendant 4 heures. Les chitosanes obtenus ont ensuite filtrés et lavés afin d'éliminer la soude résiduelle et ce jusqu'à ce que le pH de l'eau du lavage atteigne la neutralité, puis étuvés à 35°C pendant 24 heures pour les séchés.



**Figure 11:** L'extraction de chitosane à partir de la chitine. (Présent travail)

### **II.3. Calcul du degré d'acétylation (DA)**

La chitine et le chitosane sont principalement caractérisés par leur degré d'acétylation (DA). Le degré d'acétylation présente le taux de groupe acétylé par rapport au groupe non acétylé. Le degré d'acétylation (DA) est le pourcentage d'unités acétylées par rapport au nombre d'unités totales, il peut être déterminé par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF) ou par un titrage par une base forte. La frontière entre chitosane et chitine correspond à un DA de 50% : en deçà le composé est nommé chitosane, au-delà, c'es la chitine.

Le chitosane est soluble en milieu acide contrairement à la chitine qui est insoluble. Il est important de faire la distinction entre degré d'acétylation (DA) et le degré de désacétylation (DD), l'un étant l'inverse de l'autre c'est-à-dire que chitosane ayant un DD de 85% possède de 15% de groupement acétyles et 85% de groupements amines sur ses chaîne entre chitosane et chitine correspond à un DA de 50%.



➤ **Manipulation**

- ✓ On prend 0,1g de nos deux échantillons de chitosane et déposer dans un bécher.
- ✓ Ajouter un volume de 25ml de solution de HCl (0,06 N)
- ✓ Poser le mélange sous-agitation à température ambiante durant une heure,
- ✓ Ensuite ajuster avec l'eau distillé à 50 ml avec la solution NaOH (0,1N) jusqu'à un pH de (3,75) et prendre le premier volume  $V_1$ , il faut continuer à titrer jusqu'à un pH de (8,00) est mentionner le deuxième volume  $V_2$ .

➤ **Le calcul se fait comme suite :**

$$Q = (V_{NaOH} \times 0,1) / (1000 \times M_{cs})$$

Q = nombre de moles de la fraction aminée du chitosane pour un échantillon de 1g

Où  $M_{cs}$  : masse sèche de chitosane dans la prise d'essai (en g) ;  $V_{NaOH}$  : volume versé en ml ; le facteur 1000 vient du fait que  $V_{NaOH}$  est en ml

$$DA = (1 - 16 \times Q) / (1 + 42 \times Q)$$

$$DD = (161,16 \times V_{NaOH}) / M_{cs}$$

Et concernant la Chitine et par même principe

$$DD = (203,1925 \times V_{NaOH}) / M_{cs}$$

$$DA = 100 - DD$$

Où DA : degré d'acétylation et DD : degré désacétylation

#### **II.4. Test de solubilité à l'acide acétique**

Contrairement à la chitine qui est insoluble dans les solvants aqueux, le chitosane est soluble dans les acides faiblement dilués comme l'acide acétique. Ce test consiste à mettre 0,1g dont une solution d'acide acétique à 1% sous une agitation continu pendant 30 min, ensuite mettre le mélange dans un bain marie à 100 °C, puis réfrigérer à la fin de la réaction, porter l'échantillon dans la centrifugeuse 10000 tour/min pendant 10 min. Puis étuvés à 35 °C pendant 24 heures.

#### **II.5. Activité antimicrobienne du chitosane**

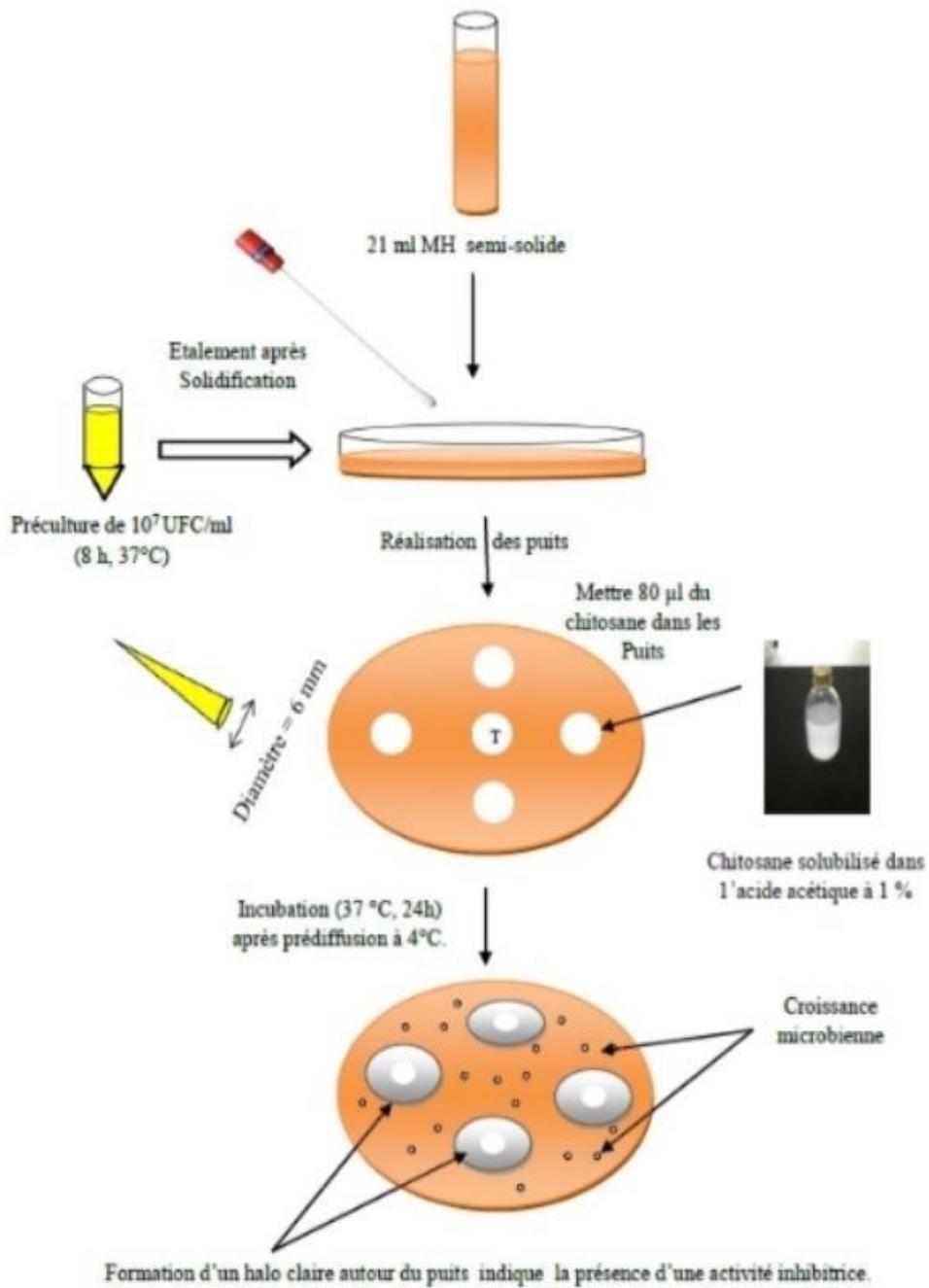
L'étude de l'activité antibactérienne du chitosane a été réalisée la méthode de diffusion en puits AWDT (Agar well Diffusion Test) : La méthode de diffusion très utilisée en microbiologie, repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu semi solide (gélouse molle). L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition, la souche du microorganisme sera qualifiée de sensible, d'intermédiaire ou de résistante. Dans la technique de diffusion il y a

compétition entre la croissance du microorganisme et la diffusion du produit à tester (**Broadasky et al., 1976**).

L'activité antibactérienne des deux chitosanes, obtenus par deux manières différentes, a été testée contre des bactéries Gram positive (*Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*) et des bactéries Gram négatif (*Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*). L'activité antifongique a été testée contre deux souches de champignon (*Aspergillus brasiliensis* et une levure (*Candida albicans*); et cela en mesurant la zone d'inhibition de croissance claire (en cm). Les souches bactériennes ont été apporté des laboratoires de recherches au niveau de l'INES.

Les suspensions de culture des souches bactériennes et fongiques ont été bien étalées (1 mL) sur une gélose solidifiée Luria-Bertani (LB) et une gélose à l'extrait de Malt respectivement, et laissés reposer 10 min pour que la gélose absorbe la solution bactérienne. A l'aide d'un embout bleu stérile, quatre puits (de 6 mm de diamètre) sont creusés dans la couche d'Agar.

Ensuite, environ 100 µL de chaque solution de chitosane a été chargé dans chaque puits. Les boîtes de pétri ont été conservées pendant 90 min à 4°C, puis, incubés pendant 24 h à 37 °C pour les souches bactériennes et à 30 °C pendant 3 à 5 jours pour les souches fongiques. L'activité antimicrobienne a été évaluée en déterminant les diamètres (en cm) de la zone d'inhibition de croissance nette autour des puits.



**Figure 12:** schéma du protocole de l'activité antimicrobienne (OULHIZ, 2019).

**Chapitre 02 :**  
**Partie 2 : Résultats et discussion**

---

## II. Résultats et discussion :

### II.1. Rendement massique de l'extraction de la chitine et du chitosane :

La matière première utilisée pour cette étude est les écailles de la carpe commune "*Cyprinus carpio*". Selon **Fernandez-Kim (2004)**, le procédé de désacétylation élimine excessivement les groupes acétyle du polymère (chitine) pour obtenir le chitosane et la figure 14 montre l'aspect final des deux chitosanes obtenus dans notre étude.



**Figure 13:** Aspect final du chitosane obtenu, A) par voie chimique et B) par voie Enzymatique (présent travail).

Les rendements de nos produits de chaque étape sont représentés en tableau ci-dessous.

**Table 2:** Les rendements massiques(en %) de l'extraction de la chitine et du chitosane pour chaque étape (chimique et enzymatique).

	Déminéralisation	Déprotéinisation	Désacétylation
<b>Méthode chimique</b>	79,43	70,57	14,46
<b>Méthode enzymatique</b>		46	24,75

Selon **Mignotte et al. (2012)**, 45 g de matière sèche permettent d'obtenir de 8 à 10 g de chitine. La valorisation des déchets issus de l'exploitation marine des crustacés est réalisée par l'extraction à l'échelle industrielle de la chitine par différents traitements effectués sur les coques de et de crabe. En effet, on retrouve dans la littérature, entre 15 et 35 % de chitine dans la carapace de diverses espèces de crevettes et de crabes (**Kobelke, 1990, Brine et al., 1992 ; Muzzarelli et Peter, 1997 ; Mignotte et al., 2012**).

Selon notre étude, le rendement de chitine le plus important est celui obtenu par voie chimique que celui extrait par voie enzymatique (70,57 et 46 % respectivement). Ces deux résultats restent trop loin des résultats rapportés par **No et al. (1989)** (14– 27% de chitine chez les crevettes). Cependant, il est constaté que le rendement de déminéralisation pour l'extraction chimique de la chitine (79,43%) obtenue dans ce travail est supérieur à celui obtenu par **Zakaria et al. (1998)** qui est de l'ordre de 21% chez les langoustines et par **Jung et al. (2005)** chez les crabes rouges (21% et 41% respectivement). Alors que, les rendements massiques des deux chitosane obtenu au final montrent une différence entre eux. La désacétylation de la chitine obtenue par voie enzymatique est plus rentable que celle de la chitine obtenue par voie chimique (24,75 et 14,46 % respectivement). Nos résultats sont supérieurs à ceux obtenus par Oulhiz en 2019 pour les coproduits de crevette (09,02 % pour voie chimique et 10,53 % par voie enzymatique).

## **II.2. Degré d'acétylation et de désacétylation du chitosane :**

Le degré d'acétylation (DA) est le pourcentage d'unités acétylées par rapport au nombre total d'unités et il est important de faire la distinction entre le degré d'acétylation (DA) et le degré de désacétylation (DD), l'un étant l'opposé de l'autre, c'est-à-dire que le chitosane avec 85 % de DD a 15 % de groupes acétyle et 85 % de groupes amine sur sa surface.

**Table 3:** Degré d'acétylation et de désacétylation (en %) des deux chitosanes extraits

	<b>DA</b>	<b>DD</b>
<b>Chitosane</b> <sub>chimique</sub>	10,47	89,53
<b>Chitosane</b> <sub>enzymatique</sub>	19,27	80,73

Les résultats ont montré que les pourcentages les plus faibles ont été obtenus pour le chitosane extrait par voie chimique (DD = 89,53 % et DA = 10,47 %) par rapport au chitosane par voie enzymatique (DD = 80,73 % et DA = 19,27 %).

Ces différences dépendent de la manière dont les échantillons ont été traités : méthode de purification de la chitine et du chitosane (**No et al., 1989**). Il apparaît que l'extraction enzymatique du chitosane des écailles de la carpe commune, suivie d'une désacétylation agressive par du NaOH concentré à haute température, permet d'obtenir un chitosane de meilleure qualité.

### II.3. Analyse biochimique des écailles de la carpe commune :

Les résultats obtenus dans tableau 3, montrent que la teneur en humidité du chitosane résultant d'une extraction chimique de la chitine est plus élevée que celle du chitosane résultant d'une extraction enzymatique de la chitine, contrairement à la teneur en cendres. Ces valeurs sont proches de celles trouvés par Oulhiz en 2019 pour les coproduits de crevette.

Et c'est la même remarque pour la teneur en minéraux des écailles de poisson par rapport aux valeurs montrées par Oulhiz en 2019 pour les coproduits de crevette rouge. À l'opposition de ce que la littérature a apportée concernant les écailles de poissons, les taux de cendres étaient de l'ordre de 14 – 30 % (Susanti et Purwanti, 2020), alors que nos résultats sont plus de 60 % de plus de ces valeurs.

**Table 4:** Les pourcentages (en %) d'humidité et de cendre des deux chitosanes obtenus (Moyenne et écart-type).

	<b>Cendre</b>	<b>Humidité</b>
<b>Chitosane</b> <sub>chimique</sub>	87,45 ±10,383	11,47 ± 2,825
<b>Chitosane</b> <sub>enzymatique</sub>	92,84 ± 1,54	09,98 ±1,94

### II.4. Solubilité du chitosane :

Le chitosane est un produit non toxique et présente une solubilité dans les acides organiques à des pH<6 tels que l'acide acétique, formique, lactique, succinique et malique. Cependant, il est insoluble dans l'eau, les milieux alcalins et les solvants organiques (Rabea et al., 2003; Kurita, 2006). En général, la solubilité du chitosane dépend de la valeur de degré de désacétylation (DD), de la force ionique du pH, de la nature de l'acide utilisé et de la distribution des groupes acétyles le long de la chaîne macromoléculaire (Rinaudo, 2006).

**Table 5:** Le taux de la solubilisation (en %) des deux chitosane obtenus.

	<b>Chitosane</b> <sub>chimique</sub>	<b>Chitosane</b> <sub>enzymatique</sub>
<b>Solubilisation</b>	6,8	31,8

Le tableau (5) montre que le chitosane obtenu par extraction enzymatique de la chitine a une solubilité dans l'acide acétique (à 1%) de 25 % de plus que celle du chitosane obtenu par extraction chimique de la chitine.

Ces valeurs restent inférieures aux valeurs de la solubilisation du chitosane extrait à partir des coproduits de crevette rouge *Aristeus antennatus* des travaux de **Hella et Chaib en 2017**.

### **II.5. L'activité antimicrobienne de chitosane :**

Le chitosane présente une activité antimicrobienne face aux différents groupes de microorganismes, bactéries, virus, champignons, et levures. En général, les moisissures et les levures sont les plus sensibles au chitosane suivies des bactéries. (**Sagoet al., 2002; Rodriguez et al., 2003; Chien et Chou, 2006; Juneja et al., 2006**).

L'activité antibactérienne du chitosane est influencée par de nombreux facteurs incluant l'origine biologique du chitosane, le pourcentage de désacétylation, le degré de polymérisation ou le poids moléculaire (PM) (**Kendra et Hadwiger, 1984; No et al., 2002**).

De plus, le degré de l'effet antimicrobien et le mode d'action varient en fonction de l'organisme ciblé (Gram+/Gram-).

Afin d'évaluer la capacité antimicrobienne des deux chitosanes obtenus lors de cette étude, le test a été effectué contre plusieurs souches pathogènes : *Listiria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* (*E. coli*), *Condida albican* et *Aspergillus brasiliensis* (Fig. 14 et Tab. 6)

**Table 6:** Le pouvoir antimicrobien du chitosane contre différentes souches pathogènes et leur diamètre d'inhibition (en cm).

Souches pathogènes	Diamètre d'inhibition (cm)	
	Chitosanechimique	Chitosaneenzymatique
<i>Listiria monocytogenes</i>	<b>1.48 ± 0.1</b>	<b>1.35 ± 0.05</b>
<i>Bacillus cereus</i>	0.65 ± 0.47	0.72 ± 0.53
<i>Proteus mirabilis</i>	1.18 ± 0.07	0.88 ± 0.07
<i>Klebsiellapneumoniae</i>	1.16 ± 0.25	<b>1.35 ± 0.05</b>
<i>Escherichia coli</i> ( <i>E. coli</i> )	00	00
<i>Condida albican</i>	<b>1.62 ± 0.2</b>	<b>1.45 ± 0.13</b>
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	<b>1.63 ± 0.1</b>	1.32 ± 0.07

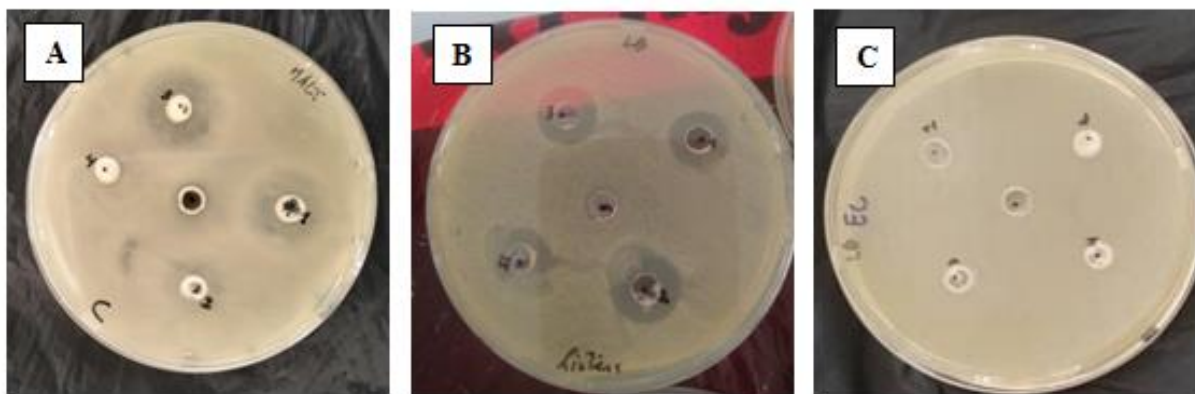
D'après le tableau 6 l'activité inhibitrice la plus importante est observée contre la souche de champignon *Aspergillus brasiliensis* et la levure *Condida albican* par le chitosane obtenu par extraction chimique de la chitine. Suivi par une activité contre *Listiria monocytogenes* par le même produit. Alors que l'activité inhibitrice du chitosane obtenu par extraction enzymatique



de la chitine est observée essentiellement contre la levure *Condida albican* et les bactéries *Listiria monocytogenes* et *Klebsiella pneumoniae*.

Il est à noter que, l'effet du chitosane sur les micro-organismes est dépendant, en termes de structure de la membrane cellulaire (Perry *et al.*, 2009). En effet, l'effet inhibiteur sur les bactéries Gram (+), telle que la bactérie *Listiri amonocytogenes*, est plus remarquable que sur l'effet sur les bactéries Gram (-). En effet, la non-résistance des bactéries au chitosane est vraisemblablement liée à la complexité de l'enveloppe cellulaire de ces micro-organismes Gram (-) qui possèdent une double membrane, contrairement à la structure membranaire simple des bactéries Gram (+) et sont donc capables pour inhiber leur croissance telle que *Escherichia coli*.

On note également que certaines bactéries ont un très faible pourcentage d'inhibition, mais elles sont prises en compte car elles ont été affectées par les deux chitosanes obtenus chacune de sa manière. Et malgré que, *Proteus mirabilis* est une bactérie à Gram (-), mais le chitosane obtenu par extraction chimique de la chitine a un effet inhibiteur contre sa croissance.



**Figure 14:** Pouvoir antibactérien du chitosane et son action (zone d'inhibition) contre :  
A : *Condida albicans* , B: *Lestiria monocytogens* et C: *Escherichia coli* (aucun activité)

# Conclusion

---

## Conclusion

Le chitosane, qui est dérivé de la chitine, se trouve naturellement dans la paroi des mycorhizes, la paroi de certaines algues vertes et, provisoirement, dans la coquille des arthropodes pendant la mue (Criniet *al.*, 2009). La principale source de chitosane reste la chitine qui est traitée chimiquement par désacétylation. Ce dernier possède des propriétés importantes qui peuvent être exploitées dans divers domaines (agriculture, industrie, cosmétique, industrie papetière, agroalimentaire, médecine, médical, traitement des eaux).

L'objectif principal de notre travail était à l'origine de valoriser les coproduits de poisson, dont notre cas se sont les écailles de la carpe commune (*Cyprinus carpio*), en obtenant du chitosane par désacétylation chimique de la chitine à l'aide de la soude NaOH. La chitine a été extraite par deux méthodes différentes (chimiques et enzymatiques) après des traitements de déminéralisation et de déprotéinisation.

La méthode enzymatique de l'extraction de la chitine est la méthode la plus rapide et la meilleure en obtenant du chitosane de bonne qualité. Nous avons remarqué que le rendement massique de la chitine extraite par voie chimique était supérieur à celui obtenu par extraction enzymatique de la chitine (70,57 et 46 % respectivement). Et le rendement de chitosane obtenu par la première méthode chimique est inférieur de 10 % de celui obtenu par la deuxième méthode enzymatique.

La solubilité du chitosane est déterminée en fonction du pourcentage du degré de désacétylation DD et à travers les résultats obtenus, on peut conclure que nos produits finis ont la capacité de se décomposer en acides, vu que les deux valeurs de DD des deux chitosanes sont supérieures à 80 %.

A travers les résultats de la composition biochimique du chitosane, on a remarqué que les deux chitosanes sont riches en minéraux de plus de 87 %.

Concernant les propriétés biologiques du chitosane, nous avons évalué la cinétique du chitosane sur plusieurs souches bactériennes, un champignon et une levure. Dont les résultats ont été remarquables, les deux chitosanes obtenus n'ont aucun pouvoir inhibiteur contre la bactérie à Gram (-) *E. coli*, et un effet positif (inhibition de la croissance des micro-organismes) contre les bactéries à Gram (+) tel que *Listeria monocytogenes* et la levure *Candida albican* et le champignon *Aspergillus brasiliensis*.

# **Les références bibliographiques**

---

## Les références bibliographiques

- Al Sagheer, F. A., Al-Sughayer, M.A., Muslim, S., Elsabee, M.Z. (2009). Extraction and characterization of chitin and chitosan from marine sources in Arabian Gulf., *Carbohydr Poly* 77(2) :410-419.
- Attila, E., Dominic, P., Wong, W.S., George, H., Robertson. (2009). Chitosan, preparation, structure, and Properties.
- Andrieux G., 2004. Rapport sur la filière française des coproduit de la pêche et de l'aquaculture : état des lieux et analyse, OFIMER, Paris.
- Abdelmalek B E., Sila A., Haddar A., Bougateg 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.
- 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.
- 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.
- Austin, P. R. (1984). Chitin solvents and solubility parameters. In *Chitin, Chitosan, and Related Enzymes* (pp. 227-237). Academic Press.
- Atkins, E. (1985). Conformations in polysaccharides and complex carbohydrates. *Journal of Biosciences*, 8(1-2), 375-387.
- Article Intermédiaire : Olivier Mignotte, Philippe Herin, Arnaud Bihan, Clarisse Randria, Yves Talneau Source : BUP n°940 (2012), p. 43-55.
- Bensaha, S. (2010). La décontamination des eaux usées sur un support naturel. *Laboratoire de Chimie Inorganique et Environnement. Mémoire de Magister. Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen.*
- Brine, C. J. & Austin, P. R. (1981). Chitin Isolates : Species Variation in Residual Amino Acids., *Comparative Biochemistry and Physiology B Biochemistry & Molecular Biology* 70(2) :173-178.
- Broadsky T.F., Lewis C., Eble T.E., 1976. Bioautographic thin layer chromatographic analysis of antibiotics and their metabolites in the whole animal. I Clindamycin in the rat. *J. Chromatogr.*, 123 :33-44.
- BOURDIAL I., 2000- La forêt et la faune. Larousse. Paris, 143 p.
- Benabbou R., 2009 – Développement et caractérisation de films antimicrobiens pour la biopréservation des produits marins prêts à consommer. *Mém. Doctorat, UNV, Laval.*
- 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.
- Berezina, N. (2016). Production and application of chitin. *Physical Sciences Reviews*, 1(9).
- Balon, E. K. (1995). Origin and domestication of the wild carp, *Cyprinus carpio* : from Romangourmets to the swimming flowers [archive]. *Dans Aquaculture*, 129(1), 3-48.

- BELAUD A., 1996- Oxygénation de l'eau en aquaculture intensive
- BILLARD R., 1995- Les carpes biologie et élevage. Institut National de la recherche agronomique.INRA, Paris, 376 p.
- Crini, G., Badot, P.M., Guibal, E. (2009). Chitine et Chitosane. Du polymère à l'application :Presses universitaires de Franche-Comté.
- Chien, P., Chou, C. (2006). Antifungal activity of chitosan and its application to control postharvest quality and fungal rotting of Takan citrus fruit (*Citrus tankan hayata*)., *Journal of the Science of Food and Agriculture*(86) : 1964–1969.
- Cuero, R. G. (1999). Antimicrobial action of exogenous chitosan., *EXS* (87) : 315-333.
- Crini G., & Badot P.M., 2008. Application of chitosan, a natural aminopolysaccharide, for dye removal from aqueous solutions by adsorption processes using batch studies : a review of recent literature., *Progress in Polymer Science*, ( 33) : 399-447.
- Crini, Pierre-Marie Badot application of chitosan a natural aminopolysaccharide , for dye removal from aqueous solutions by adsorption processes using batch studies , *Progr. Polym. Sci* (2007)
- Du, Y. J., Zhao, Y. Q., Dai, S. C., Yang, B. (2009). Preparation of water-soluble chitosan from shrimp shell and its antibacterial activity., *Innov. Food Sci. Emerg. Technol* 10(1) :103-107.
- DUBORGEL M., 1955- La pêche et les poissons de rivière. S.I, Livre de poche, 375 p.
- 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 – Ecofriendly extraction and characterization of chitin and chitosan from the shrimp shell waste via microwave irradiation. *Process Safety and Environmental Protection*, 104 : 395-405.
- Freeborn, D. E. (1989) . Plant growth regulators derived from chitin. United States Patent. # 4,812,159.
- Fernandez-Kim S.O., 2004. Physicochemical and functional properties of crawfish chitosan as affected by processing protocols. Dissertation of MSc.: Graduate Faculty of Seoul National University. p. 107.
- Gizatulina G.A., Chebotok E.N., Novikov V.Y., Konovalova I.N., 2005. Kinetics of Acid Hydrolysis of Acetylglucosamine. *Russian Journal of Applied Chemistry*, 78(5) : 791-793.
- H. K. No, S. P. Meyers, (1997) Preparation of chitin and chito-san, in *Chitin Handbook*, R. A. A. Muzzarelli, Peter, M. G., Edi-tor. 475-489
- Ivshina, T. N., Artamonova, S. D., Ivshin, V. P., & Sharnina, F. F. (2009). Isolation of the chitin-glucan complex from the fruiting bodies of *mycothallus*. *Applied biochemistry and microbiology*, 45(3), 313-318.
- Juneja, V. K., Thippareddi, H., Bari, L., Inatsu, H., Kawamoto, S. & Friedman, M. (2006)., *J. Food Sci* 71.M236.
- Kurita, K. (2006). Chitin and chitosan : functional biopolymers from marine crustaceans., *Marine Biotechnology* (8) : 203-226.
- Kendra, D. F. & Hadwiger, L.A. (1984). Characterization of the smallest chitosan oligomer that is maximally antifungal to *Fusarium solan* and elicits pisatin formation in *pisum sativum*., *Experimental mycology* (8) : 276-281.

Kumar M.N.V Ravi., 2000. A Review of Chitin and Chitosan Applications, Reactive and Functional Polymers 46(1) :1-27. DOI : 10.1016/S1381-5148(00)00038-9.

KHELIL M.A., 1994- Travaux pratiques de biologie Animale. Ed. O. P. U. Paris, 65 p.

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.

Kenchington, W. (1976). Adaptation of insect peritrophic membranes to form cocoon fabrics. The insect integument, 497-513.

Kobelke, 1990, Brine et al., 1992 ; Muzzarelli et Peter, 1997 ; Mignotte et al., 2012).

Kangde Yao, Junjie Li, Fanglian Yao, Yuji Yin, 2012. « From chitin to chitosan. » IN Chitosan-Based Hydrogels Functions and Applications eds.. Teng, D, CRC Press—Taylor and Francis Group 1-37.

Kobelke D., 1990. By-products from crustacean wastes-chitin production. Food Australia, 42 : 18-19.

Kasaai.M.R (2007). Calculation of Mark–Houwink–Sakurada (MHS) equation Viscometric constants for chitosan in any solvent–temperature system using experimental reported viscometric constants data. Journal of Carbohydrate Polymers 68 (2007) 477–488.

Le Roux, K. (2012). Purification de la chitine par hydrolyse enzymatique à partir de coproduits de crevette *Penaeus vannamei*. Caractérisations des produits et optimisation du procédé. École Doctorale : Végétal, Environnement, Nutrition, Agroalimentaire, Mer.

Muzzarelli, R. A. A. (1977). Depolymerization of chitins and chitosans with hemicellulase, lysozyme, papain and lipase. Chitin handbook, 153-165.

MUUS et DAHLSTROM., 1991- Guide des poissons d'eau douce et pêche. Edition Originale : Europas Ferksvandsfisk. 220 p.

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), HeSixteen LACCEI International Multi-Conference For Engineering, Education And Technology «Innovation, Education, And Inclusion »

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

NO, H. K, Meyers, S. P, & Lee, S. (1989). Isolation and characterization of chitin from crawfish shell waste., Journal of agricultural and food chemistry (37) : 575-579.

Noishiki, Y., Nishiyama, Y., Wada, M., & Kuga, S. (2005). Complexation of  $\alpha$ -chitin with aliphatic amines. Biomacromolecules, 6(4), 2362-2364. .

Olteanu, C. E., & Enescu, D. (2007). Chitosan involved tissue engineering and regenerative medicine. Romanian Biotechnological Letters, 12(3), 3217.

PERNET-POIL-CHEVRIER, A. (2009). Nouvelle méthode de préparation de chito oligosaccharides possédant une structure et une architecture contrôlées. L'Université De Lyon.

Peesan, M., Rujiravanit, R., & Supaphol, P. (2003). Characterisation of beta-chitin/poly (vinyl alcohol) blend films. Polymer testing, 22(4), 381-387.

Qin, Y., Zhu, C., Chen, J., Chen, Y., Zhang, C. (2006). The absorption and release of silver and zinc ions by chitosan fibers., J Appl Polym Sci (101) : 766-71.

Rabea, E. I., Badawy, M. E. T., Stevens, C. V., Smagge, G., Steurbaut, W. (2003). Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action., *Biomacromolecules* (4) :1457-1465.

Rodríguez, M. S., Ramos, V., Agulló, E. (2003). Antimicrobial Action of Chitosan against Spoilage Organisms in Precooked Pizza., *J Food Sci* 68 (1):271-274.

Rao, M. S., Stevens, W. F. (2005). Chitin production by *Lactobacillus* fermentation of shrimp biowaste in a drum reactor and its chemical conversion to chitosan., *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* (80) : 1080-1087.

Rinaudo, M. (2007). Properties and degradation of selected polysaccharides : hyaluronan and chitosan. *Corrosion engineering, science and technology*, 42(4), 324-334.

Rinaudo, M. (2008). Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials. *Polymer International*, 57(3), 397-430.

Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan : properties and applications. *Progress in polymer science*, 31(7), 603-632.

Ruiz-Herrera, J., & San-Blas, G. (2003). Chitin synthesis as a target for antifungal drugs. *Current Drug Targets-Infectious Disorders*, 3(1), 77-91.

Rouget, Ch. « Des substances amyliées dans les tissus des animaux, spécialement des Articulés (chitine). » *Comp. Rend* 48, 792-795, (1859).

Rudall, K. M. (1969). Chitin and its association with other molecules. In *Journal of Polymer Science Part C : Polymer Symposia* (Vol. 28, No. 1, pp. 83-102). New York : Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company.

Sagoo, S., Board, R., Roller, S. (2002). Chitosan inhibits growth of spoilage microorganisms in chilled pork products., *Food Microbiol* (19) : 175-182.

Song, Y., Babiker, E.E., Usui, M., Saito, A., Kato, A. (2002). Emulsifying properties and bactericidal action of chitosan-Isozyme conjugates., *Food Research International* (35) : 459-466.

Suyatama, N. E. (2006). Développement de films biodégradable à base de chitosane : étude de mélange chitosane/PLA, de la plastification et de la comptabilisation

Sannan, T., Kurita, K., & Iwakura, Y. (1976). Studies on chitin, 2. Effect of deacetylation on solubility. *Die Makromolekulare Chemie : Macromolecular Chemistry and Physics*, 177(12), 3589-3600.

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

Thomas, S., Durand, D., Chassenieux C. & Jyotishkumar, P. (2013). *Handbook of biopolymer-based materials : from blends and composites to gels and complex networks*. John Wiley & Sons.-VCH, Verlag GmbH, Germany. 988.

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.

Vincent, J. F., & Wegst, U. G. (2004). Design and mechanical properties of insect cuticle. *Arthropod structure & development*, 33(3), 187-199.

Winterowd, J. G., and P. A. Sandford, 1995. « Chitin and chitosan » IN *Food Polysaccharides and Their Applications*.. 441-441



Young, D. K., No, H. K., Kim, D. S., Prinyawiwatkul, W. (2007). Physical characteristics of decolorized chitosan as affected by sun drying during chitosan preparation., Carbohydr Polymers (69): 707-712.

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

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.

Zheng, L.Y., Zhu, J.F. (2003). Study on antimicrobial activity of chitosan with different molecular weights, Carbohydr Polymer (54) : 527-530.

Sites internet

[https://www.fao.org/fishery/docs/DOCUMENT/aquaculture/CulturedSpecies/file/fr/fr\\_comm<sup>on</sup>carp](https://www.fao.org/fishery/docs/DOCUMENT/aquaculture/CulturedSpecies/file/fr/fr_comm<sup>on</sup>carp).