

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة والحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

Mr. DAHMENE RYAD et Mr. ELAHOUEL Abderrahmen

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCES ALIMENTAIRES

Spécialité : Nutrition et Pathologie

THÈME

Propriété antioxydante du chitosane issu des carapaces de crustacés (crevettes)

Déposé le/...../2020

DEVANT LE JURY

Président	RIAZI Ali	PR	U. Mostaganem
Examineur	CHAALEL Abdelmalek	MCA	U. Mostaganem
Directeur de thèse	BOUZIANE Nabil	MAA	U. Mostaganem

2019- 2020



Dédicace

Nous tenons à dédier ce modeste travail

A nos très chers (s) parents

A nos frères et sœurs

A toute la famille, Ainsi qu'à tous nos ami(e)s

Remerciements

Après avoir rendu grâce à **Dieu**, le tout puissant et miséricordieux, nous tenons à remercier vivement :

- Notre encadreur : **Mr. BOUZIANE Nabil.**, MAA à l'université de Mostaganem, pour son aide et ses prestigieux conseils.
- Les membres du jury, pour avoir accepté de juger ce travail, en particulier **Mr. RIAZI Ali.**, Président du jury et professeur à l'université de Mostaganem, ainsi que **Mr. CHAALEL Abdelmalek**, Maître assistant au niveau du même établissement.
- Tout le corps enseignant de l'université, qui nous a formés avec rigueur et patience tout au long de notre cursus universitaire.
- Tous les ami(e)s qui ont su apporté leur soutien moral et intellectuel.
- Et pour finir, nos remerciements vont aussi à nos chers parents, source de vie, de tendresse et de bonheur.

RYAD ET ABDERRAHMANE

Liste des tableaux

N° du tableau	Titre	N° de page
Tableau 1	Rendement massique obtenu après extraction de la chitine et du chitosane	27

Liste des figures

N° de figure	Titre	N° de page
Figure 1	Morphologie d'une crevette Pénéide	4
Figure 2	Quelques coproduits (Déchets) issus de la transformation de crevette.	7
Figure 3	Structure chimique et de chitine et de chitosane	11
Figure 4	Principales sources de chitine et de chitosane.	12
Figure 5	Étapes d'extraction de chitine et de chitosane à partir des carapaces de crustacés	14
Figure 6	Différentes étapes de prétraitement des carapaces de crevettes	22
Figure 7	Aspect du chitosane après l'opération de désacétylation	24
Figure 8	Structure chimique du DPPH•	25
Figure 9	Poudre de chitosane.	27
Figure 10	Activités de piégeage du chitosane de crabe, de l'acide ascorbique et du BHA sur le radical DPPH	28
Figure 11	Effets de piégeage du chitosane de crabe, de l'acide ascorbique et du BHA sur l'activité antioxydante totale	29
Figure 12	Test de piégeage des radicaux DPPH	31

Liste des abréviations

°C	:	Degré Celsius
CaCO ₃	:	Carbonate de calcium
Ca(OH) ₂	:	Hydroxyde de calcium
cm	:	centimètre
CO ₂	:	Dioxyde de carbone
DA	:	degré d'acétylation
DD	:	Degré de désacétylation
DPPH	:	1,1-diphényle-2- picrylhydrazyl
FAO	:	Food and Agriculture Organization
g	:	gramme
h	:	heure
HCl	:	Acide chlorhydrique
H ₂ O ₂	:	Peroxyde d'hydrogène
Kg	:	Kilogramme
KOH	:	Hydroxyde de potassium
K ₂ CO ₃	:	Carbonate de potassium
KMnO ₄	:	permanganate de potassium
m	:	mètre
M/l	:	Mole/litre
mn	:	minute
mm	:	millimètre
mg	:	milligramme
ml	:	millilitre
MM	:	masse moléculaire
µg	:	microgramme
N	:	Normal
nm	:	nanomètre
Na ₂ S	:	Sulfure de sodium
NaClO	:	Hypochlorite de sodium
NaOH	:	Hydroxyde de sodium
Na ₂ SO ₃	:	Sulfite de sodium
NaBH ₄	:	Tétrahydruroborate de sodium
NaHCO ₃	:	Bicarbonate de sodium
Na ₂ CO ₃	:	Carbonate de sodium
Na ₃ PO ₄	:	Phosphate de sodium
OFIMER	:	Office National Interprofessionnel des Produits de la Mer et de l'Aquaculture
p	:	<i>Poids</i>
PM	:	poids moléculaire
%	:	Pourcentage
pH	:	potentiel d'hydrogène
v	:	volume

Table des matières

Dédicace	
Remerciements	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	

Introduction	1
--------------------	---

Partie théorique

Chapitre 1 : Valorisation des coproduits de la crevette

1. Généralités sur les crevettes.....	3
1.1. Définition	3
1.2. Description morphologique	3
1.3. Répartition géographique	4
1.4. Position systématique	4
1.5. Cycle de reproduction	5
1.6. Propriétés nutritionnelles	5
1.7. Pêche crevettière	6
1.8. Marché de production.....	6
1.9. Les coproduits de la crevette	7
1.9.1. Définition d'un coproduit	7
1.9.2. Valorisation potentielle des coproduits issus de la transformation de crevettes.....	8
1.9.2.1. Farine de crevette	8
1.9.2.2. Compost de crevette	9
1.9.2.3. Hydrolysats de crevette	9
1.9.2.4. Huile de krill	9
1.9.2.5. Arômes	9
1.9.2.6. Chitine et Chitosane	10

Chapitre 2 : Le Chitosane

2. Le chitosane	11
2.1. Définition	11
2.2. Sources et production	11
2.3. Procédé de production du chitosane	12
2.3.1. Extraction de la chitine	12
• Etape de déminéralisation	12
• Etape de déprotéinisation	13
• Etape de décoloration (ou de blanchiment)	13
2.3.2. Synthèse de chitosane	13
• Etape de désacétylation	13
2.4. Propriétés physico-chimiques du chitosane	15
2.4.1. Le degré d'acétylation	15
2.4.2. La masse moléculaire	15
2.4.3. La viscosité	15
2.4.4. La solubilité	16
2.4.5. La cristallinité	16
2.5. Propriétés biologiques du chitosane	16
2.5.1. Biocompatibilité	17
2.5.2. Biodégradabilité	17
2.5.3. Activité antimicrobienne	17

2.5.4. Activité antioxydante	18
2.5.5. Activité antivirale	18
2.5.6. Activité anti-tumorale	19
2.6. Applications du chitosane	19
2.6.1. En Agriculture	19
2.6.2. En alimentation	19
2.6.3. En biomédical et pharmaceutique	20
2.6.4. En cosmétique	20
2.6.5. Traitement des eaux	20

Partie pratique

Matériel et méthodes

1. Matériel et méthodes	21
1.1. Objectif de l'étude	21
1.2. Origine et nature de l'échantillon	21
1.3. Extraction de la chitine et du chitosane des carapaces de crevettes	22
1.3.1. Prétraitement des carapaces	22
1.3.2. Extraction de la chitine	23
1.3.2.1. Procédure chimique	23
✓ Etape 1 : Déminéralisation	23
✓ Etape 2 : Déprotéinisation	23
✓ Etape 3 : Décoloration (blanchiment)	23
1.3.3. Obtention du chitosane	24
✓ Etape 4 : Désacétylation	24
1.4. Etude de l'activité antioxydante du chitosane	24
1.4.1. Préparation de la solution de chitosane	24
1.4.2. Test de capacité de piégeage des radicaux DPPH	25
1.4.3. Activité antioxydante totale	26

Résultats et discussion

1. Résultats et discussion	27
1.1. Rendement d'extraction de la chitine et du chitosane des carapaces de crevettes	27
1.2. Etude de l'activité antioxydante du chitosane	28
1.2.1. Résultats et discussion de l'article rapporté par (Prabu et Natarajan, 2012)	28
1.2.1.1. Résultats de la capacité de piégeage des radicaux DPPH	28
1.2.1.2. Résultats de l'activité antioxydante totale	29
1.2.1.3. Discussion	29
1.2.2. Résultats et discussion de l'article rapporté par (Rajalakshmi, Krithiga et Jayachitra).....	31
1.2.2.1. Résultats de la capacité de piégeage des radicaux DPPH	31
1.2.2.2. Discussion	31
Conclusion	32
Références bibliographiques	33

Introduction

Introduction

La valorisation des coproduits marins constitue un véritable enjeu. En effet, dans un contexte de diminution des volumes de pêche débarqués, la valorisation des coproduits peut fournir : un revenu complémentaire aux entreprises de pêche (de première et seconde transformation), une source complémentaire de protéines d'origine marine sur le marché alimentaire (des molécules à forte valeur ajoutée possédant des propriétés intéressantes) et une réponse à la problématique de développement durable en transformant des déchets en matières premières (Delannoy et Coquelle, 2017).

Dans ce même contexte de valorisation, plusieurs travaux de recherche ont montré la richesse du milieu marin en produits naturels qui déverse une multitude de métabolites secondaires, bioactifs (issus des coproduits), jouant un rôle dans la régulation de divers systèmes biologiques (Rasti et *al.*, 2016).

Parmi ces molécules bioactives, le chitosane extrait des carapaces de crustacés trouve plusieurs possibilités d'utilisation. Il a été introduit en cosmétique, en agriculture, en industrie alimentaire, en biomédecine et en pharmacie et ce en tant qu'agent de préservation, émulsifiant, texturant ou supplément diététique (Kanmani, 2017).

Dans cette étude, nous nous sommes fixé comme objectif :

- d'extraire le chitosane à partir des carapaces de crevettes (en utilisant un procédé d'extraction chimique) ;
- Suivi par une évaluation de l'activité antioxydante de ce produit *in vitro*;

Ce manuscrit divisé en deux parties (théorique et pratique) sera consacré dans un premier temps à la découverte du produit marin, la crevette (l'attention sera portée dans ce chapitre sur quelques généralités du crustacé et les voies de valorisation issues de ses coproduits), s'en suivra une synthèse rappelant quelques caractéristiques du chitosane, le processus d'obtention de ce biopolymère et ses principaux domaines d'application.

La deuxième partie pratique, sera consacrée à l'étude de deux articles scientifiques ayant travaillé sur l'activité antioxydante du chitosane en utilisant le test de piégeage des radicaux libres DPPH et le test de l'activité antioxydante totale.

Un troisième volet expérimental sera par la suite alloué à la discussion des résultats obtenus, pour conclure par un résumé qui englobe les résultats des travaux entamés et les perspectives pour des recherches avenir.

Partie Théorique

Chapitre 1

Valorisation des coproduits de la crevette

1. Généralités sur les crevettes

1.1. Définition

La crevette est le nom vernaculaire partagé par de nombreuses familles de crustacés nageurs essentiellement marins, mais aussi dulçaquicoles (eaux douces ou saumâtres).

Possédant un corps protégé par une carapace segmentée (où chaque segment est relié aux autres par des membranes articulaires), ce dernier comprend deux parties : le céphalothorax, communément nommé la « tête » ; là où se trouvent les dents, les organes sensitifs (yeux et antennes) et les quatre paires de pattes marcheuses qui lui permettent de se déplacer sur les fonds sableux et l'abdomen, que l'on appelle habituellement la « queue », la partie comestible, articulé et muni de deux pattes nageuses. Le tout est recouvert d'une carapace dont la couleur varie selon les espèces (Jaffrès, 2009).

Par tradition, deux termes anglo-saxons sont utilisés pour désigner la crevette : (Shrimp) et (Prawn). Les deux termes sont couramment employés de façon interchangeable pour dénommer plusieurs espèces dans différentes régions du monde. Conventionnellement, la FAO réserve le terme « Shrimp » pour les crevettes d'eaux marines et saumâtres, et le terme « Prawn » pour les espèces d'eaux douces (FAO, 1998).

1.2. Description morphologique

Les crevettes constituent un grand groupe de Crustacés de tailles très diverses, de quelques millimètres jusqu'à environ 35 cm de longueur (mesurée de l'extrémité du rostre à l'extrémité du telson). Le corps est presque toujours comprimé latéralement, le rostre généralement comprimé et denté, et l'abdomen long, plus long que la carapace ou la tête (Ghorab, 2016).

Chez la plupart des crevettes les sexes sont séparés, mais chez certaines espèces les individus passent par une phase mâle puis se transforment en femelles (Voir figure 1).

La plupart des espèces d'intérêt commercial appartiennent aux 7 familles suivantes : *Aristeidae*, *Crangonidae*, *Palaemonidae*, *Pandalidae*, *Pasiphaeidae*, *Penaeidae* et *Solenoceridae*.

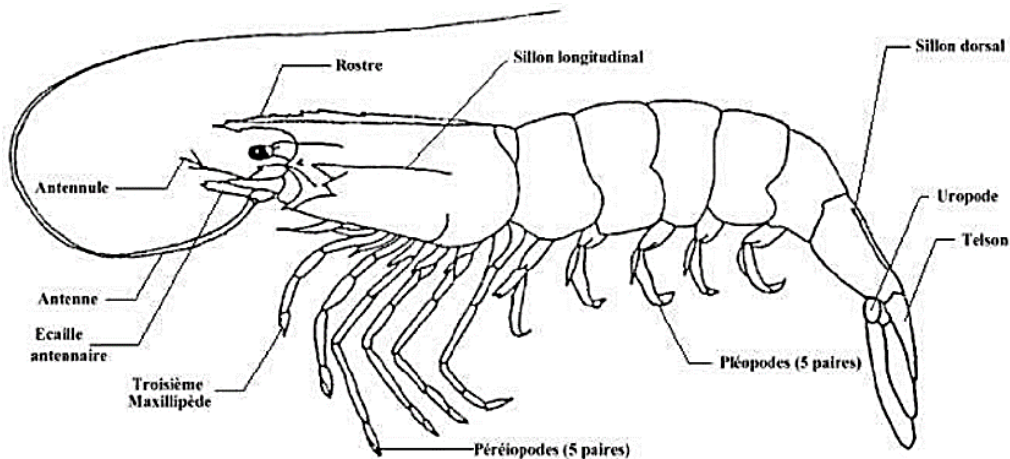


Figure 1. Morphologie d'une crevette Pénéide (Etimosundja, 2017).

1.3. Répartition géographique

Les crevettes sont largement distribuées, on les rencontre aussi bien dans les eaux marines que saumâtres ou douces, et ceci de l'équateur aux régions polaires. La plupart des crevettes commerciales sont récoltés sur le plateau continental à des profondeurs de 100m. Beaucoup de crevettes sont pélagiques mais en grande majorité elles sont benthique vivant sur des fonds très divers (roche, vase, débris coquilliers ou mélange de ces matériaux) (Holthius, 1987).

Les mouvements migratoires sont de deux types, l'un horizontal et l'autre vertical. La migration horizontale semble être saisonnière et se produit lorsque les femelles pendent ces œufs déplacent vers des eaux moins profondes (à l'intérieur des limites naturellement imposées par la température) (FAO, 2007).

1.4. Position systématique

Les crevettes appartiennent à l'embranchement des Arthropodes, au sous-embranchement des Antennates, à la classe des Crustacés, à la sous-classe des Eucarides et à l'ordre des décapodes qui constituent l'ordre le plus important des crustacés de par le nombre d'espèces. Il comprend toutes les espèces comestibles connues, à savoir : les crevettes, les homards, les langoustes, les écrevisses, les crabes et galathées (Farfante et Kensley, 1997).

Bien que d'apparences similaires entre elles, les crevettes se distinguent par leur structure segmentaire variée, qui les classe dans trois infra-ordres différents :

- Les crevettes *Penaeidae* (infra-ordre des *Penaeidea*) ;
- Les crevettes *Caridea*, qui incluent les crevettes grises et les crevettes nordiques ;
- et les crevettes de la famille des *Palemonoidea* (contenant les crevettes d'eau douce appelé les Camarons ou celles d'eau de mer comme les crevettes roses (Jaffrès, 2009).

1.5. Cycle de reproduction

Chez la crevette, la reproduction n'est pas hermaphrodite, il faut obligatoirement qu'un mâle féconde une femelle, ils ont des organes génitaux distincts.

La fécondation a lieu juste après une mue de la femelle : c'est le seul moment où la femelle est fécondable car sa carapace n'est pas encore solidifiée. Le mâle dépose ses spermatophores près des organes génitaux de la femelle avant l'expulsion des ovules pour qu'ils soient fécondés.

Pour que le mâle sache que la femelle est fécondable, elle sécrète des phéromones sexuelles qu'elle libère avant la ponte. Quand la femelle est trouvée, le mâle se place sous le ventre de la femme pour libérer les spermatophores.

La femelle expulse les œufs fécondés et les place entre ces pattes arrière pour une durée de 3 à 4 semaines. La femelle va ventiler ses œufs par des mouvements de ces pattes, et elle se débarrassera des mauvais œufs d'elle-même.

Les juvéniles naissent constitués, ils ne font que quelques millimètres.

1.6. Propriétés nutritionnelles

Comme la plupart des fruits de mer, la crevette possède une excellente valeur nutritive. Elle fournit des protéines d'une haute valeur nutritionnelle et ses lipides comptent une majorité d'acides gras mono-insaturés et polyinsaturés dont les effets protecteurs sur la santé sont largement reconnus.

Elle constitue une excellente source de vitamines du groupe B, notamment la vitamine B12 et B3 (ou PP) (Une portion de 100 g couvre plus de 60% de l'apport nutritionnel conseillé par jour pour un adulte en vitamine B12 ; et plus de 45 % de l'apport conseillé en vitamine B3). Elle apporte également de la vitamine A, de la provitamine A, et de la vitamine E.

La crevette présente d'importantes concentrations en minéraux et oligo-éléments (notamment en sélénium, fer, phosphore, zinc, cuivre, iode et magnésium) et contient deux substances auxquelles on attribue des propriétés antioxydantes particulières : la coenzyme

Q10 (CoQ10), un composé dont la structure est proche de la vitamine K et l'Astaxanthine, un pigment de la famille des caroténoïdes (Agence canadienne d'inspection des aliments, 2010).

1.7. Pêche crevettière

Les principales techniques de pêche des crevettes, utilisent le chalut de fond, le chalut pélagique, le filet maillant ou les casiers (OFIMER, 2001).

Dans la plupart des pays producteurs, coexistent une pêche côtière traditionnelle utilisant des embarcations à pagaie ou à voile et des engins dormants (filets maillants, sennes de plage, casiers). Une pêche artisanale avec de petites embarcations motorisées armées de mini-chaluts et une pêche hauturière avec des bateaux puissants, armés de chaluts à tangon appelés également « chaluts floridiens ». Ces derniers sont équipés pour conditionner et congeler les crevettes en mer et débarquer un produit fini.

La plupart des grands armements crevettiers industriels appartiennent aux pays développés ou sont le fruit de joint-ventures avec des entreprises locales (Jaffrès, 2009).

1.8. Marché de production

La crevette est le produit marin le plus valorisé sur le marché mondial avec une contribution de 16% en valeur. La Chine est le premier producteur de crevettes dans le monde en assurant 41,6% de la production totale, suivie de loin par l'Indonésie et l'Inde avec 8,6% et 8,3%. La Chine est également le premier exportateur, suivie par le Viêt-Nam et la Thaïlande (Gillett, 2008).

Le volume de la capture mondiale de crevettes est passé d'environ 2 millions de tonnes en 1990 à près de 3,6 millions de tonnes en 2006. La production issue de l'aquaculture de crevettes ne cesse également de se développer : elle représente 40% de la production totale en 2004.

La contribution malgache à la production crevettière mondiale est modeste, mais de haute qualité. Elle est estimée à 13 000 tonnes en 2006 dont 51% représentés par les crevettes d'aquaculture (Randriamahatody, 2011).

1.9. Les coproduits de la crevette

1.9.1. Définition d'un coproduit

Les coproduits sont définis comme étant les parties non comestibles et récupérables lors des opérations traditionnelles de production. Ils sont issus de la transformation des poissons et sont constitués de têtes, de viscères, de filetage, de peau, d'écaillés, d'arêtes et de queues (Randriamahatody, 2011).

Les coproduits issus du processus de transformation de la crevette sont constitués de carapaces provenant de queue, de pattes et de têtes de crevette ainsi qu'un peu de chair, d'organes internes et d'œufs. Ils sont récupérables à la suite du décorticage mécanique de la crevette cuite fait en usine de transformation.

Ces matières renferment de nombreuses molécules valorisables notamment des protéines, lipides, minéraux, vitamines, ainsi que d'autres composés bioactifs, bénéfiques pour la santé humaine et animale (Kim et *al.*, 2008).

La figure 2, montre le produit consommable (chair) et quelques coproduits provenant de la filière de transformation de la crevette.

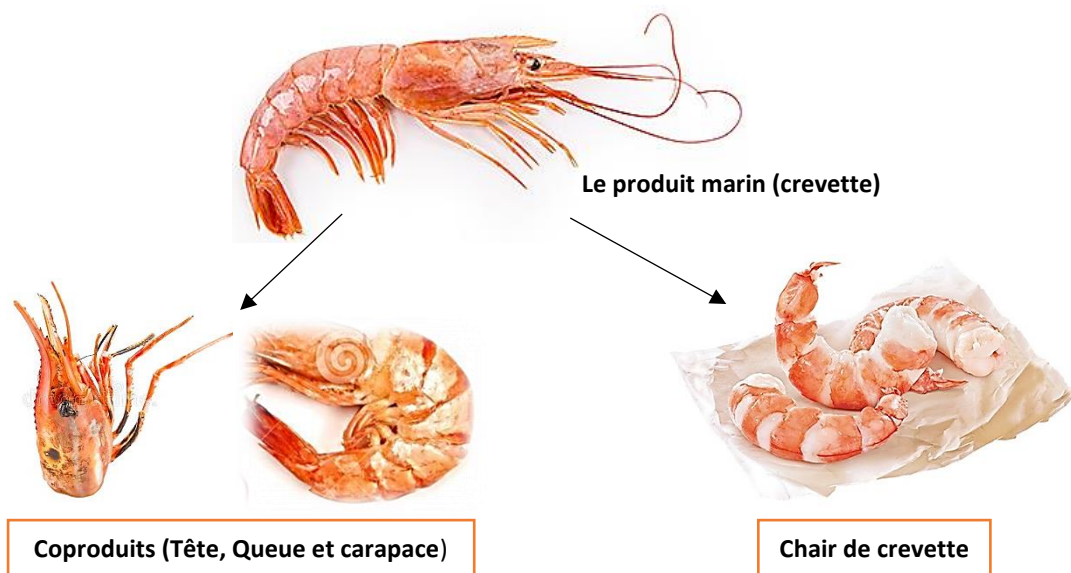


Figure 2. Quelques coproduits (Déchets) issus de la transformation de crevette.

1.9.2. Valorisation potentielle des coproduits issus de la transformation de crevettes

Les coproduits marins représentent en moyenne 50% du poids de la matière première. Constitués des parties de l'animal non consommées par l'humain directement (têtes, arêtes, peaux, coquilles...), ils sont riches en protéines, lipides, minéraux et autres molécules d'intérêt et peuvent être transformés en différents produits : farine, hydrolysats, huile, chair, arômes, collagène, minéraux, fertilisant.....etc.

Différents procédés existent pour obtenir des produits à plus ou moins haute valeur ajoutée : la cuisson dans le cas de la farine, l'hydrolyse pour solubiliser les protéines, la séparation mécanique pour obtenir de la pulpe, la décantation centrifuge pour extraire de l'huile et des protéines solubilisées, la filtration pour extraire et concentrer des molécules d'intérêt et le séchage pour stabiliser les produits obtenus.

Les choix technologiques sont fonction des volumes disponibles, des investissements nécessaires, des teneurs en composés d'intérêt, très variables d'une espèce à l'autre, et des attentes du marché (Delannoy et Coquelle, 2017).

Les principales voies de valorisation, illustrent ainsi la palette des possibilités d'utilisation de ces coproduits.

1.9.2.1. Farine de crevette

La valorisation des coproduits de crevettes en farines pour l'alimentation animale et comme engrais naturel est actuellement la valorisation la plus importante dans le secteur industriel.

Grâce à la chitine et aux oligo-éléments qu'elle contient, la farine de crevettes aide à la fertilité du sol et stimule la vie microbienne. Elle peut, favoriser l'enracinement, corriger les carences en oligo-éléments, aider à restaurer la fertilité du sol et sa capacité de rétention d'eau, et fertiliser plus rapidement que la poudre d'os.

Tous les coproduits marins peuvent être utilisés sans distinction et aucun tri n'est nécessaire. Ainsi, en 2006, environ 20,2 millions de tonnes de poissons et de coproduits ont été transformés en farines (FAO, 2008). En 2008, 2,6 millions de tonnes de farines ont ainsi été commercialisés avec près de 25% des matières utilisées qui étaient des coproduits issus de l'industrie de transformation du poisson (FAO Globefish, 2009).

La fabrication de la farine consiste en une cuisson de la matière première dans de l'eau bouillante, un pressage pour extraire l'excès de l'eau et des lipides suivi d'un séchage. Le produit séché est ensuite broyé et tamisé (Sila, 2015).

1.9.2.2. Compost de crevette

Ce compost est à la fois l'amendement et le fertilisant par excellence au jardin. Il enseme le sol en micro-organismes. Il sert aussi d'abri et de nourriture à ces derniers. Il améliore la structure du sol, il équilibre le pH et il fournit les éléments nutritifs essentiels aux végétaux. Comme ces éléments sont libérés de façon graduelle, les plantes bénéficient d'une source de nourriture constante et régulière (Merinov, 2013).

1.9.2.3. Hydrolysats de crevette

Les déchets produits par la mer représentent une source importante de protéines, de lipides, de vitamines et d'oligo-éléments. Grâce à sa carapace et à certains de ses déchets, la crevette en devient l'exemple parfait. La digestion enzymatique de ces carapaces avec des protéases (enzyme), permet la récupération d'hydrolysats protéiques riches en protéines et oligo-éléments ainsi que plusieurs autres vitamines.

L'hydrolysats de crevette constitue un excellent apport de vitamines, protéines et minéraux, totalement écologique, sans aucune dangerosité puisqu'il est naturel et utilisable peu importe le mois de la saison (Tang *et al.*, 2008).

1.9.2.4. Huile de krill

Comme toutes les huiles marines, les coproduits de krills sont souvent vantés pour leurs acides gras. L'huile de cette petite crevette renferme une large gamme d'acides gras indispensables au bon fonctionnement de l'organisme.

1.9.2.5. Arômes

L'extraction de substances aromatiques constitue une autre voie de valorisation des coproduits marins (Randriamahatody, 2011). Têtes et arêtes de poisson, têtes et carapaces de crustacés, branchies des coquilles Saint-Jacques et viscères sont toutes proscrites (Ifremer, 2010).

Deux principes de fabrication cohabitent : le premier qui vise à sécher la matière par cuisson puis à broyer le produit conduit à l'obtention d'une poudre aromatique peu soluble ; le deuxième au contraire consiste à mettre en contact la matière première et l'eau puis à récupérer cette eau et à concentrer puis sécher les matières organiques dissoutes afin d'obtenir un extrait soluble.

Les coproduits peuvent ainsi être valorisés à la condition impérative qu'ils soient de qualité et propre à la consommation humaine (Balti, 2011).

1.9.2.6. Chitine et chitosane

La chitine et le chitosane sont des polysaccharides issus du processus de transformation des coproduits de la plupart des invertébrés marins (les carapaces de crabes et de crevettes sont d'ailleurs la source la plus abondante en ces polymères).

Grâce à leurs propriétés biologiques fortes intéressantes, ils ont suscité un réel intérêt des industriels puisqu'ils peuvent intervenir dans plusieurs domaines d'application.

De par leur biocompatibilité avec les tissus du corps humain, ces bio-polymères offrent plusieurs activités (antioxydante, antimicrobienne.....) qui peuvent constituer une alternative prometteuse dans plusieurs secteurs de production (Leclerc, 1997).

Chapitre 2

Le Chitosane

2. Le chitosane

2.1. Définition

Le chitosane est un copolymère linéaire flexible de 2-acétamido-2-déoxy- β -D-glucopyranose et 2-amino-2-déoxy- β -D-glucopyranose liés en β (1-4) (Voir figure 3). C'est une molécule obtenue par désacétylation d'un autre polymère, plus abondant que le chitosane, appelé chitine, extraite le plus souvent des carapaces de crustacés tels que le krill, le crabe et la crevette (Payet, 2005).

Les deux molécules (chitine et chitosane) se distinguent l'une de l'autre par leur degré d'acétylation (DA), qui reflète la proportion relative de monomères N-acétyl glucosamine présents dans le polymère (Voir figure 1). Lorsque le DA est supérieur à 50%, le polymère est pratiquement insoluble dans les solutions acides diluées et correspond à la chitine. Lorsque le DA est inférieur à 50%, le polymère est soluble dans ces solutions acides et le nom de chitosane lui est attribué (Arrouze *et al.*, 2017).

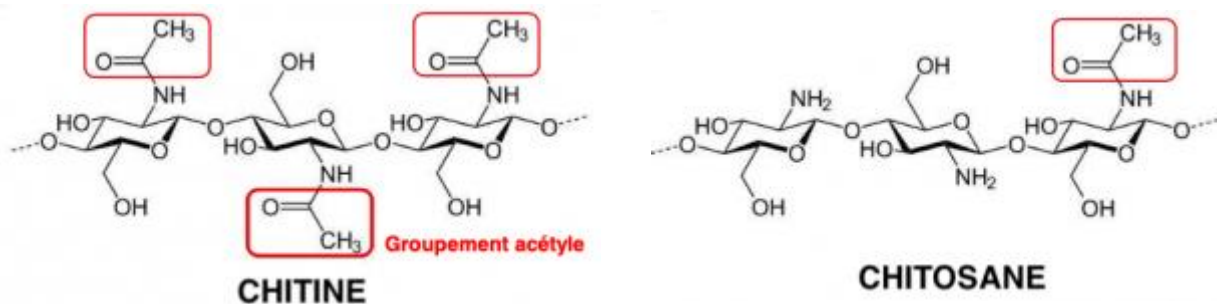


Figure 3. Structure chimique et de chitine et de chitosane

2.2. Sources et production

La chitine est largement répandue dans la nature et va donc constituer la principale source de chitosane (Zitouni, 2013).

Ce biopolymère se trouve chez la plupart des invertébrés marins (crevettes, crabes, langoustes....), les invertébrés terrestres (arachnides et myriapodes ou la chitine peut représenter de 20 à 80 %), certains organismes unicellulaires tels que les algues et les protozoaires ainsi que les champignons inférieurs tels que *Aspergillus Niger*, *Penicillium notatum* ou *Mucor rouxii*. La concentration en ce biopolymère varie suivant sa provenance biologique (Caillau, 2017).

La figure 4. Illustre les principales sources de chitine et de chitosane issues de crustacés, d'arthropodes, et de quelques champignons.



Figure 4. Principales sources de chitine et de chitosane.

Concernant le marché de production de chitine et de ses dérivés comme le chitosane, la demande mondiale a atteint les 63 milliards de dollars selon un rapport de Global Industry Analysts Inc. (Chitin and Chitosan derivatives Market Report – 2015). Cette forte croissance est due aux multiples applications porteuses de plusieurs avantages, dans des domaines industriels aussi variés, tels que la bioplastique, la biomédecine, l'agrochimie, les cosmétiques, les produits pharmaceutiques, le traitement de l'eau, les aliments et les boissons.

Les usines d'extraction de chitine, sont implantées principalement au Japon et en Asie-Pacifique, travaillant sur une matière première issue de crabes et principalement de crevettes (SFLY, 2015).

2.3. Procédé de production du chitosane

2.3.1. Extraction de la chitine

La méthode d'extraction de la chitine la plus utilisée est basée sur un procédé chimique acido-basique en trois étapes (Araiza, 2006) :

- **Etape de déminéralisation**

Le traitement acide élimine les minéraux, qui passent en solution sous forme de sels. Les acides les plus utilisés à l'échelle industrielle pour la déminéralisation sont l'acide chlorhydrique, l'acide acétique, l'acide sulfurique ou encore l'acide éthylène-diamine-tétra-acétique (EDTA). Le plus souvent, l'acide chlorhydrique (HCl) est privilégié (Hassainia, 2018).

Ici, la réaction de déminéralisation est établie entre l'élément minéral majoritaire, le carbonate de calcium, et le HCl selon l'équation :



Les concentrations en HCl rencontrées sont comprises entre 0,5 et 11 N et le ratio substrat/solvant entre 1:10 et 1:40. La déminéralisation dure entre 15 min et 48 h, à la température de 50 °C. La réaction avec le carbonate de sodium est achevée lorsque le dégagement de CO₂ cesse (Hassainia, 2018).

- **Etape de déprotéinisation**

A l'état naturel, la chitine se présente toujours en association avec des protéines (Chitino-protéine). Ces protéines sont éliminées par un traitement basique en utilisant, des solutions à base de NaOH, Na₂CO₃, NaHCO₃, KOH, K₂CO₃, Ca(OH)₂, Na₂SO₃, CaSO₃, ou Na₃PO₄, avec des concentrations allant de 0,1 à 5 mol.L⁻¹ (Hamed Bachir et *al.*, 2019).

La solution d'hydroxyde de sodium à concentration de (~10 % massique) est la plus souvent utilisée pour dissoudre les protéines. La durée du traitement basique est de l'ordre de 0,5 à 72 h à hautes températures (65-100°C) (Kumari et *al.*, 2015).

- **Etape de décoloration (ou de blanchiment)**

Cette étape optionnelle est souvent réalisée par un traitement avec des agents oxydants (KMnO₄, ou H₂O₂) pour éliminer les traces de pigments que peuvent contenir les carapaces comme les caroténoïdes (Crini et *al.*, 2009).

Ce traitement qui ne doit pas avoir un effet sur les propriétés physico-chimiques de la chitine et par la suite du chitosane doit être effectué pendant plus d'une heure pour aboutir à un produit blanc commercialement acceptable. En utilisant l'acétone, on peut aboutir à une chitine quasiment blanche (No et *al.*, 1989).

2.3.2. Synthèse de chitosane

- **Etape de désacétylation**

Le chitosane est le produit de la désacétylation de la chitine par hydrolyse des groupements acétyles en milieu alcalin, à forte température.

En jouant sur la durée du traitement et sur la température, il est possible d'obtenir différents chitosanes à partir d'une même chitine (Zemmouri, 2008).

La réaction de désacétylation est le plus souvent effectuée, en utilisant des solutions concentrées de NaOH ou de KOH (30-50%) à des températures supérieures à 100°C, dans une atmosphère inerte ou en présence de substances réductrices telles que le NaBH₄ ou le Na₂SO₃ pour éviter la dépolymérisation du polymère.

Les conditions spécifiques de la réaction dépendront du produit de départ, du prétraitement réalisé auparavant et du degré souhaité de désacétylation (Anouar et *al.*, 2005).

La figure 5, présente brièvement, les différentes étapes d'extraction de chitine et de chitosane à partir des carapaces de crustacés.

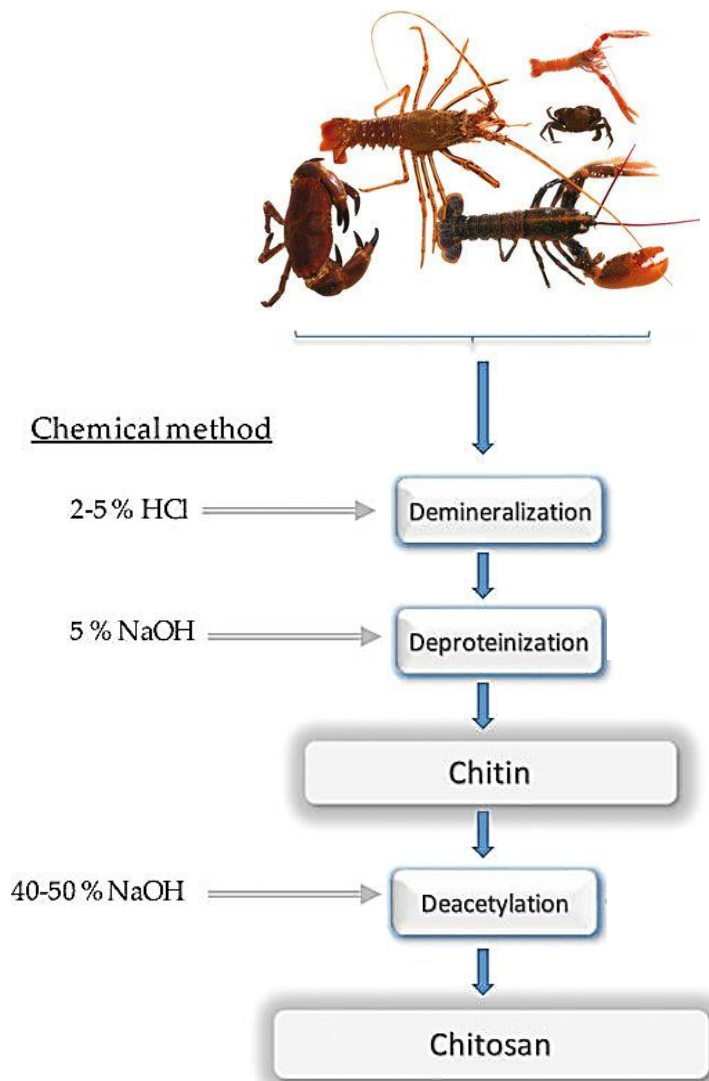


Figure 5. Étapes d'extraction de chitine et de chitosane à partir des carapaces de crustacés (Oñate et Francès, 2018).

2.4. Propriétés physico-chimiques du chitosane

2.4.1. Le degré d'acétylation

Le degré d'acétylation (DA) est un paramètre clé pour la caractérisation du chitosane. Il présente le taux ou le pourcentage des groupements acétylés au niveau des unités structurales de la chitine par rapport aux groupements non acétylés dans cette même structure.

C'est un paramètre important pour différencier entre la chitine et son dérivé, le chitosane. Important aussi, car il influe sur toutes les propriétés physico-chimiques du chitosane, à savoir, la masse moléculaire, la viscosité, la solubilité, ...etc. (Zemmouri, 2008).

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour déterminer le degré d'acétylation, on cite : le titrage potentiométrique (ou volumétrique), la spectrométrie infrarouge, la spectrophotométrie ultraviolet visible, l'analyse élémentaire, et la résonance magnétique nucléaire (Haidra, 2018).

2.4.2. La masse moléculaire

La masse moléculaire (PM) constitue un deuxième paramètre important. Sa valeur dépend intimement du procédé de fabrication qui peut induire une dépolymérisation ou une dégradation des chaînes macromoléculaires par effet mécanique ou chimique.

Les chaînes de chitosane ont souvent de masses très élevées, mais le choix de la masse appropriée doit être adapté à l'application industrielle désirée.

La MM affecte la solubilité du chitosane et ses propriétés rhéologiques, notamment sa viscosité. Elle peut également influencer significativement sur les propriétés du polymère en solution, comme le paramètre DD. Il s'agit alors de trouver un compromis entre la rigidité du chitosane solide (favorisée par des chitosanes de haut PM) et les propriétés rhéologiques de la solution.

Les méthodes classiques utilisées pour la détermination de la masse consistent en des mesures viscosimétriques ou des mesures chromatographiques par perméation de gel (GPC) (Crini et al., 2009).

2.4.3. La viscosité

La viscosité du chitosane dépend du DD de ce polymère. Plus il est désacétylé, plus il y a des groupements amines libres, plus le chitosane est soluble, et par voie de conséquence sa viscosité est plus importante.

La viscosité dépend également de la concentration du polymère, de la température (elle chute lorsque la température augmente), du poids moléculaire (la viscosité intrinsèque

augmente en fonction de l'augmentation du poids moléculaire) et enfin du pH (plus il est bas plus la viscosité est élevée). Il existe différentes méthodes pour déterminer la viscosité, la plus employée utilise le viscosimètre (Berth et *al.*, 1998).

2.4.4. La solubilité

Le chitosane est insoluble dans les solvants organiques mais soluble en milieu acide, que ce soit des acides organiques (acides formique, acétique, lactique, pyruvique ...) ou minéraux (acides chlorhydrique et nitrique). Ceci provient du fait qu'en milieu acide, il est possible de protoner les groupements amines NH_2 faisant du chitosane un poly-électrolyte (Kurita, 2006).

Sa solubilité dépend en grande partie du pH du milieu, mais également d'autres paramètres qui sont la masse molaire, la force ionique du milieu, la nature de l'acide utilisé, les conditions d'isolation et de séchage du chitosane, les liaisons hydrogènes possibles impliquant les groupements hydroxyles et la distribution des groupements acétyles le long de la chaîne (Venugopal, 2011).

2.4.5. La cristallinité

La cristallinité est un paramètre important puisqu'il 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. Elle est en général, déterminée par des mesures de diffraction aux rayons X (Aljawish, 2013).

Par rapport à cette propriété, le chitosane est 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) (Crini et *al.*, 2009).

2.5. Propriétés biologiques du chitosane

Le chitosane possède des propriétés biologiques particulièrement intéressantes, répondant à de nombreuses exigences industrielles (notamment en pharmacologie, en cosmétologie, en ingénierie tissulaire et celui du secteur agroalimentaire) (Annouar et *al.*, 2005). Il offre l'avantage d'être un polymère naturel, non toxique, biodégradable, possédant plusieurs activités (antimicrobienne, antioxydante, antivirale et anti-tumorale) constatées à travers plusieurs travaux de recherche (Brault, 2009).

2.5.1. Biocompatibilité

Le chitosane est considéré comme un matériau biocompatible. Sa présence et son interaction avec les tissus et cellules de l'organisme entraîne de très faibles réactions inflammatoires et de rejet. Ses propriétés immunologiques sont donc très limitées car le chitosane est reconnu par l'organisme comme un élément de soi, un agent non étranger, non immunogène, et n'ayant pas de pouvoir antigénique (Hutmacher et *al.*, 2001).

Il est aussi naturellement résorbable avec des cinétiques contrôlées. Les études actuellement disponibles ont montré que le chitosane est un matériau sans danger pour la santé. Cependant, des contre-indications proscrivent son utilisation dans les cas d'allergies aux fruits de mer (Arkoun, 2017).

2.5.2. Biodégradabilité

Le chitosane et la chitine sont susceptibles à la dégradation sous l'action d'une large variété d'enzymes spécifiques telles que les chitinases, les lipases, les glucanases et les chitosanases, ou non spécifiques comme le lysozyme et les protéases (Kumar et *al.*, 2005).

Une des enzymes utilisées pour la fragmentation du chitosane et la production d'oligomères de chitosane est la chitosanase (EC 3.2.1.132) (ou chitosane N-acétyl-glucosamine hydrolase). Cette enzyme catalysant l'endohydrolyse de la liaison osidique β - $(1\rightarrow4)$ entre les unités D-glucosamine (GlcNc) et clive de façon spécifique le chitosane mais pas la chitine.

Le chitosane est également sensible à l'hydrolyse acide et à la dégradation oxydo-réductrice (Arkoun, 2017).

2.5.3. Activité antimicrobienne

Le chitosane présente une excellente activité antimicrobienne face aux différents groupes de microorganismes (bactéries, virus, champignons, et levures) (Juneja et *al.*, 2006).

De par sa nature cationique, le chitosane interagirait avec la paroi cellulaire anionique des microorganismes (interactions électrostatiques), et adhère facilement aux cellules microbiennes, puisque les amines chargées positivement agissent avec les charges négatives sur la membrane des cellules, libérant ainsi les constituants intracellulaires.

Il pourrait chélater dans un autre cas les ions métalliques, nécessaires à la croissance microbienne ou à la production de toxines et interagir avec la membrane des cellules pour altérer sa perméabilité entravant ainsi l'entrée de certains nutriments.

Seule, la fraction soluble en milieu acide (pH 5,5) présente une capacité antimicrobienne, car aux pH supérieurs, le biopolymère est insoluble, ce qui traduit une perte drastique de son efficacité (Qin *et al.*, 2006).

L'activité antibactérienne du chitosane est influencée par plusieurs paramètres, 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 l'effet antimicrobien varie aussi en fonction de l'organisme ciblé (Gram+/Gram-) et les conditions environnementales lors de l'interaction (Cuero, 1999).

2.5.4. Activité antioxydante

L'activité antioxydante est l'une des propriétés les plus connues du chitosane. De nombreuses études ont montré que le chitosane inhibe les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et empêche l'oxydation des lipides dans les aliments et autres systèmes biologiques.

Plusieurs mécanismes sur l'action antioxydante du chitosane ont été proposés.

Le chitosane peut piéger les radicaux libres ou chélater les ions métalliques du donneur d'hydrogène ou des paires d'électrons isolées. L'interaction du chitosane avec les ions métalliques pourrait impliquer plusieurs actions complexes, notamment l'adsorption, l'échange d'ions et la chélation.

Les groupes hydroxyle (OH) et les groupes amino (NH₂) du chitosane sont les groupes fonctionnels clés pour son activité antioxydante, mais peuvent être difficiles à dissocier en raison de la structure semi-cristalline du chitosane avec de fortes liaisons hydrogène (Rajalakshmi *et al.*, 2013).

2.5.5. Activité antivirale

Le chitosane possède un large spectre d'activités biologiques uniques, y compris sa capacité à induire une résistance aux infections virales chez les plantes, à inhiber l'infection virale dans les cellules animales et à prévenir le développement d'une infection phagique dans les cultures microbiennes.

Une activité qui dépend du degré de polymérisation, du degré de désacétylation, et le caractère chimique de la molécule (Chirkov, 2002).

2.5.6. Activité anti-tumorale

L'activité anti-tumorale du chitosane est issue de sa structure chimique qui contient deux groupement actifs (groupement amine et groupement hydroxyle). En fait, les interactions entre les charges positives du chitosane et les charges négatives sur les membranes des cellules cancéreuses et les jonctions serrées augmentent la perméabilité et permettent aux médicaments adsorbés sur le chitosane de pénétrer dans les cellules cancéreuses (Schipper et *al.*, 1997).

Les oligomères de chitosane exercent aussi leur effet anti-tumoral en empêchant la croissance des cellules tumorales par stimulation du système immunitaire.

L'activité anti-tumorale du chitosane augmente avec la diminution du poids moléculaire, du degré de désacétylation et la viscosité et donc avec l'augmentation de la solubilité dans l'eau (Vinsova et Vavrikova, 2011).

2.6. Applications du chitosane

2.6.1. En Agriculture

L'enrobage des semences par du chitosane est l'une des applications les plus utilisées en agriculture. C'est une technique qui permet aux fruits et légumes de résister aux attaques de plusieurs agents pathogènes tels que les bactéries et les champignons (Zitouni, 2017).

Il constitue aussi un bio-fongicide naturel très efficace contre *Fusarium oxysporum*, un champignon qui cause la pourriture racinaire des tomates cultivées en serre et en plein champ (Crini et *al.*, 2009).

La chitine et le chitosane sont aussi des éliciteurs. En d'autres mots, ce sont des molécules qui ont une action phytopathogène. Elles déclenchent chez la plante des mécanismes de défense qui la protègent des agressions extérieures. Le chitosane joue aussi un rôle important pour la clarification, la désacidification et l'élimination des métaux lourds dans le vin (Collin, 2011).

2.6.2. En alimentation

Le chitosane est utilisé dans le domaine alimentaire pour différents besoins. On l'emploie entre autres comme agent de préservation, agent émulsifiant, agent de texture ou supplément diététique (on avance qu'il aurait des vertus pour lutter contre l'obésité).

Comme il ne peut être complètement digéré par notre système digestif, il est utilisé comme fibres alimentaires : Il s'est montré efficace pour éliminer les bactéries pathogènes très présentes dans le domaine alimentaire (*Salmonella*, *E.coli*, *Listeria*) grâce à ses propriétés antibactériennes (Vézina, 2017).

2.6.3. En biomédical et pharmaceutique

De nombreuses études s'intéressent à son utilisation pour la science des biomatériaux et du génie tissulaire, pour la distribution de médicaments dans le corps, surtout pour les agents de chimiothérapie, pour le traitement des plaies et de la peau grâce à des propriétés pro-coagulantes et antibactériennes. On utilise déjà le chitosane dans les centres de traumatologie pour arrêter les saignements abondants en moins de quelques minutes. Il aurait du potentiel dans le traitement de différentes maladies du foie, des reins, des os, des vaisseaux sanguins, etc. Il est aussi actuellement utilisé comme agent pour diminuer le mauvais cholestérol ainsi que dans les domaines dentaire et ophtalmologique (Cheung, 2015 ; Islam, 2017).

2.6.4. En cosmétique

Le chitosane est utilisé dans les crèmes, les lotions, comme additif dans les vernis à ongles et comme élément actif et revitalisant dans le shampoing. Sa capacité de maintien de l'humidité de la peau, du traitement de l'acné, de l'amélioration de la souplesse des cheveux et de la réduction de l'électricité statique dans les cheveux font du chitosane un excellent candidat en cosmétique (Dima et *al.*, 2013).

2.6.5. Traitement des eaux

La plus grande utilisation de chitosane est pour la coagulation/floculation et pour l'absorption de métaux lourds (Collin, 2011).

Pour capter les métaux lourds en solution dans l'eau, il est souvent conditionné sous forme de billes de quelques millimètres de diamètre, en jouant un rôle plus ou moins identique à celui des résines échangeuses d'ions (Crini et *al.*, 2010).

Dans ce contexte, le chitosane peut être utilisé seul ou en combinaison avec d'autres coagulants, tels que les sels métalliques d'aluminium ou de fer. Mis à part sa grande disponibilité, le grand intérêt à utiliser ce composé d'origine biologique comme agent flocculant provient du fait qu'il est biodégradable et non-toxique (Keong et *al.*, 1994).

Partie Pratique

Matériel et Méthodes

1. Matériel et méthodes

1.1. Objectif de l'étude

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de la recherche et la valorisation d'une molécule naturelle, bioactive, issus des carapaces de crevettes, appelée Chitosane.

Une ressource très convoité par les industriels, qui semble trouver sa place dans de multiples applications, grâce à ses propriétés biologiques et physicochimiques d'une grande valeur ajoutée.

L'idée de valorisation des déchets rejetés par les principaux restaurants de la ville de Mostaganem constitué notre principal objectif. Le but était d'essayer au moins de minimiser la quantité de déchets expulsés, et essayé d'offrir au futur, une activité génératrice de revenus pour les travailleurs exclus, qui pourraient assurer cette tâche de collecte en faveur des industriels.

Certes on n'en est pas là pour exposer notre idée aux organismes et structures qualifiées pour envisager une telle création vu l'état actuel des choses (Pandémie de Covid-19), mais l'idée restera quand même comme une perspective future pour la gestion des sous-produits issus de la décoction du produit consommé.

L'objectif à travers ce manuscrit, consiste à déterminer parmi les multiples activités que possède le chitosane, l'activité antioxydante de ce copolymère et ce après avoir élaboré un Protocole d'extraction de chitine et la préparation de chitosane à partir des carapaces de crevettes.

Une étude qui devrait normalement être réalisée au niveau du laboratoire LMBAFS de l'Université de Mostaganem, mais le confinement lié à la pandémie de Covid-19 a fait que l'expérimentation soit annulé et sera remplacé par des protocoles explicatifs en relation avec l'objectif assigné.

1.2. Origine et nature de l'échantillon

Des exosquelettes de crevettes fraîches seront utilisés dans cette étude pour extraire le chitosane. Elles seront fournies par les employeurs des différentes pêcheries de la wilaya de Mostaganem.

Une totalité de 08kg de déchets sera obtenu, cependant, un poids final d'un seul kilogramme de carapaces de crevettes sera récupéré après tri. Une quantité qui restera tout de même suffisante pour notre étude.

1.3. Extraction de la chitine et du chitosane des carapaces de crevettes

1.3.1. Prétraitement des carapaces

Avant d'établir toute la panoplie de procédés d'extraction de la chitine et du chitosane, les carapaces de crevettes seront d'abord :

- Nettoyées soigneusement à l'eau du robinet pour éliminer tous les résidus organiques ;
- Laissées sécher à température ambiante, pendant 24 heures à 48 heures ;
- Les carapaces sèches ainsi obtenus seront ensuite broyées à l'aide d'un pilon mortier ou d'un broyeur à café de façon à obtenir une fine poudre, dont la taille est de l'ordre du millimètre (0,5 à 0,8mm). Plus les carapaces de crevettes sont finement broyées, plus les réactions chimiques qui suivront le prétraitement seront complètes.
- Le produit obtenu (farine de carapaces) peut être conservé à l'étuve dans un flacon en verre hermétiquement fermé, même pour une longue durée de stockage.

La figure 6, montre en détail toutes les étapes de ce prétraitement jusqu'à l'obtention de la poudre ou de la farine de carapaces.



Figure 6. Différentes étapes de prétraitement des carapaces de crevettes

1.3.2. Extraction de la chitine

1.3.2.1. Procédure chimique

✓ Etape 1 : Déminéralisation

Les carapaces, une fois prétraitées (lavage, broyage et séchage), seront minutieusement mélangées dans des solutions aqueuses d'acide chlorhydrique (HCl). Tout au long de l'expérience, le rapport de solide-liquide est de 1:10 p/v (poids de carapace sec/volume de solution HCl dilué) (Truong et *al.*, 2006).

Le mélange solide/solvant sera laissé à température ambiante, sous agitation constante pendant 24 heures afin d'éliminer le CO₂ produit au cours de la réaction.

Le produit obtenu sera ensuite récupéré, puis filtré et lavé plusieurs fois à l'eau distillée jusqu'à obtention d'un pH neutre (pH 7). Le produit récupéré sera ensuite séché à l'étuve pendant 24 heures à 50°C (Prabu et Natarajan, 2012).

✓ Etape 2 : Déprotéinisation

Les carapaces déminéralisées, après des lavages à l'eau jusqu'au pH neutre, seront mélangées dans des solutions de soude caustique (NaOH) en proportion 1:10 p/v (poids de carapace sec/volume NaOH) à une température de 80°C pendant une période de 24 heures (Truong et *al.*, 2006).

Le produit traité sera par la suite filtré de la solution basique, puis lavé à l'eau distillée pour être mis par la suite à l'étuve (à 50°C) afin de sécher et ce pendant au moins 24 heures jusqu'à obtention d'un poids stable.

✓ Etape 3 : Décoloration (blanchiment)

Après les étapes de traitements acides et alcalins, la chitine obtenue doit être décolorée des pigments qui forment un complexe avec la chitine.

La première opération de décoloration consiste à additionner la matière sèche obtenue à un mélange acétone/éthanol (v/v). Le mélange sera laissé sous agitation magnétique durant toute une nuit, puis une filtration sera effectuée, poursuivie puis plusieurs lavages à l'eau distillée et un dernier rinçage avec l'éthanol.

Après étuvage pendant toute une nuit à 50°C, la matière sèche obtenue, sera de nouveau traitée avec le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) à une concentration de 0,135%, et un rapport solide/solvant (p/10v), sous agitation magnétique maintenue pendant 30 minutes.

Le mélange sera par la suite filtré, suivi de plusieurs lavages du culot à l'eau distillée et séchage à l'étuve pendant 24 heures à 50°C.

1.3.3. Obtention du chitosane

✓ Etape 4 : Désacétylation

C'est une opération qui est généralement effectuée dans une solution de NaOH (50%), sous une température de 100°C pendant 2 heures, selon un ratio (p/v) de 1:15.

Le chitosane obtenu sera ensuite filtré puis lavé à l'eau distillée afin d'éliminer la soude résiduelle et ce jusqu'à ce que le pH de l'eau de lavage atteigne la neutralité.

Après étuvage pendant 12 heures à 50°C, la poudre de chitosane acquise sera prête à être utilisée suivant l'objectif assigné.

La figure 7, montre l'aspect du chitosane après l'étape de désacétylation.



Figure 7. Aspect du chitosane après l'opération de désacétylation.

1.4. Etude de l'activité antioxydante du chitosane

L'activité antioxydante du chitosane sera évaluée par le test de piégeage des radicaux DPPH.

1.4.1. Préparation de la solution de chitosane

La poudre de chitosane sera solubilisée (préparation d'une solution mère) en dissolvant 1,0 mg de chitosane dans 2 ml d'une solution aqueuse d'acide acétique à 1,0% (poids / volume), sous agitation constante pendant 1 à 4 heures et à température ambiante.

A partir de la solution mère, plusieurs solutions filles seront préparées en prélevant plusieurs volumes (0,25, 0,50, 0,75 et 1,0 ml) qui seront complétés jusqu'à 1 ml en ajoutant 1% d'acide acétique. Le but sera de préparer diverses concentrations contenant 125 µg, 250 µg, 375 µg et 500 µg d'échantillon de chitosane correspondant respectivement à 25, 50, 75 et 100% (Prabu et Natarajan, 2012).

1.4.2. Test de capacité de piégeage des radicaux DPPH

Le potentiel anti-radicalaire d'une substance peut être testé à l'aide d'une méthode colorimétrique en utilisant des radicaux de substitution tel que le radical 1,1-diphényle-2-picrylhydrazyl appelé DPPH• (figure 8).

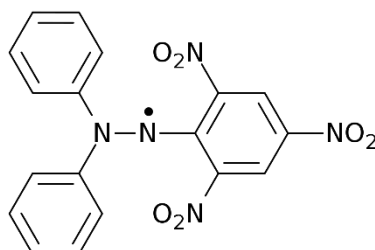
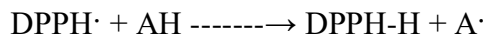


Figure 8. Structure chimique du DPPH•

En solution et à température ambiante, le radical DPPH• présente une coloration violette intense. Son passage à la forme non radicalaire, après saturation de ses couches électroniques s'accompagne d'une disparition de cette coloration selon l'équation :



La diminution de l'intensité de la coloration est suivie par mesure colorimétrique à 517 nm. Elle rend ainsi compte du pouvoir piégeur des composés étudiés vis-à-vis du DPPH• (Aljawish, 2013).

L'effet de piégeage du chitosane sur le radical DPPH sera examiné en utilisant cette méthode décrite par (Shimada et *al.* 1992) avec quelques modifications.

Chaque échantillon de chitosane (0,1-10 mg/ml) dans une solution d'acide acétique à 0,2% sera mélangé avec 1 ml d'une solution méthanolique contenant des radicaux DPPH. Les résultats aboutiront à une concentration finale de 10 mM de DPPH.

Le mélange sera agité vigoureusement et laissé au repos pendant 30 minutes dans l'obscurité.

L'absorbance sera ensuite mesurée à 517 nm par rapport à un blanc. L'acide ascorbique, le BHA et l' α -tocophérol seront utilisés comme standard (Prabu et Natarajan, 2012).

L'activité de piégeage des radicaux DPPH, sera calculée comme suit :

$$\text{la capacité de piégeage en (\%)} = \frac{\Delta A_{517} \text{ du contrôle} - \Delta A_{517} \text{ de l'échantillon}}{\Delta A_{517} \text{ du contrôle}} \times 100$$

1.4.3. Activité antioxydante totale

L'activité antioxydante totale sera déterminée par la méthode du diène conjugué (Lingnert et al. 1979). Chaque échantillon de chitosane (0,1 à 10 mg / ml) mélangé avec une solution d'acide acétique à 0,2% sera additionné à 2 ml d'une émulsion d'acide linoléique 10 mM à pH 6,5.

Les différents échantillons seront par la suite, placés dans l'obscurité à 37 ° C pour accélérer l'oxydation.

Après 15 heures d'incubation, 6 ml de méthanol à 60% dans de l'eau dionisée seront ajoutés. L'absorbance du mélange sera mesurée à 234 nm par rapport à un blanc dans un spectrophotomètre approprié.

L'activité antioxydante sera calculée comme suit :

$$\text{l'activité antioxydante en (\%)} = \frac{\Delta A_{234} \text{ du contrôle} - \Delta A_{234} \text{ de l'échantillon}}{\Delta A_{234} \text{ du contrôle}} \times 100$$

Un contrôle était constitué de méthanol et d'une solution de réactif sans chitosane. Une valeur d'activité antioxydante de 100% indique l'activité antioxydante la plus forte. L'acide ascorbique, le BHA et l'a-tocophérol ont été utilisés comme standard de comparaison (Prabu et Natarajan, 2012).

Pour rappel, le teste de l'activité de piégeage des radicaux DPPH et celui de l'activité antioxydante totale seront effectués trois fois.

Résultats et Discussion

1. Résultats et discussion

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

Après avoir effectué un prétraitement adéquat des carapaces de crevettes, suivi d'un traitement chimique en quatre étapes (déméralisation, déprotéinisation, blanchiment et désacétylation), le chitosane extrait devra se présenter sous forme d'une poudre inodore, sans saveur et de couleur blanche comme montré dans la figure 9.



Figure 9. Poudre de chitosane.

Les cuticules des crustacés sont constituées essentiellement de minéraux, de protéines et de chitine (Kurita, 2006).

Selon Mignotte et *al.*, (2012), 45g de matière sèche permettent d'obtenir 8 à 10g de chitine ce qui est approximativement en accord avec les résultats trouvés par nos collègues (.....), ayant étudié l'activité antimicrobienne du chitosane issus des carapaces de crustacés dans une étude précédente. Les résultats obtenus, sont mentionnés dans le tableau 1.

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

Poids du début des carapaces de crevettes séchées et broyées	Poids de poudre Après déminéralisation et déprotéinisation	Rendement des produits chitineux en (%)	Rendement du chitosane après désacétylation
41.866g	8.111g	19.37%	16.08%

1.2. Etude de l'activité antioxydante du chitosane

1.2.1. Résultats et discussion de l'article rapporté par (Prabu et Natarajan, 2012), portant sur l'activité antimicrobienne et antioxydante du chitosane isolé du crabe *Podophthalmus Vigil*. In *Journal of Applied Pharmaceutical Science Vol. 2 (9)*, pp. 075-082.

1.2.1.1. Résultats de la capacité de piégeage des radicaux DPPH

La capacité de piégeage du chitosane de *Podophthalmus vigil* sur les radicaux DPPH a été rapportée dans cet article à 55,56% à 10 mg/ml.

L'acide ascorbique et le BHA ont montré des capacités de piégeage modérées à élevées de 60,34% et 85,40% respectivement. Ainsi, l'activité antioxydante du chitosane de *Podophthalmus vigil* s'est avérée être un piègeur modéré pour les radicaux DPPH.

Le potentiel de piégeage des radicaux DPPH du chitosane variait de 18,08% à 55,56% à des concentrations variables allant de 0,1 à 10 mg/ml.

A titre indicatif, l'acide ascorbique et le BHA ont été utilisés comme standard (Voir fig. 10).

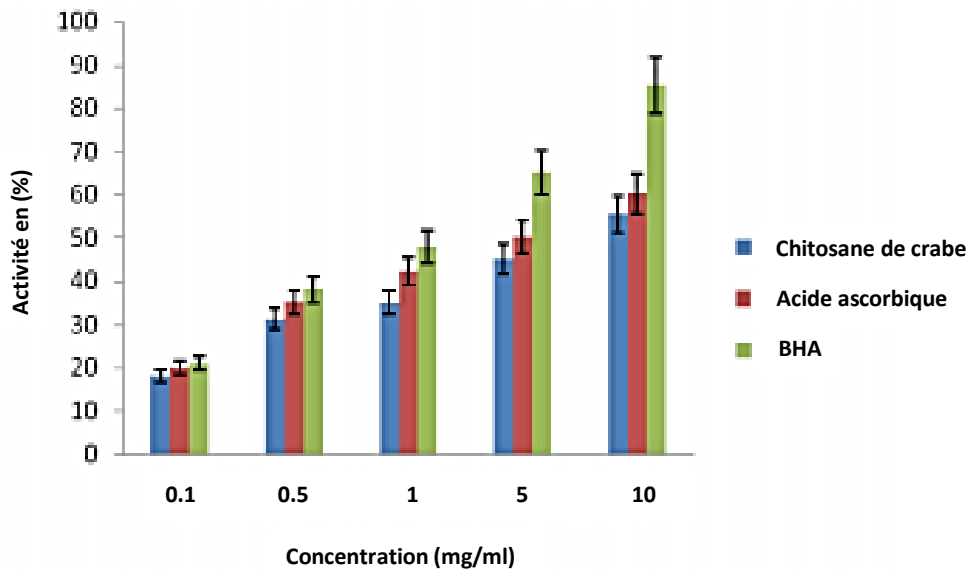


Figure 10. Activités de piégeage du chitosane de crabe, de l'acide ascorbique et du BHA sur le radical DPPH (Prabu et Natarajan, 2012).

1.2.1.2. Résultats de l'activité antioxydante totale

Dans le procédé au diène conjugué, et d'après les résultats de recherche obtenus par (Prabu et Natarajan, 2012), l'activité antioxydante totale du chitosane était comprise entre 18,37% et 79,58% à des concentrations variables allant de 0,1 à 10 mg/ml. Il a montré une activité antioxydante constante avec une concentration accrue, tandis que l'acide ascorbique et le BHA ont rapporté 79,58% et 86,41% d'activité antioxydante à la concentration la plus élevée (Voir fig.11). L'acide ascorbique et le BHA ont été utilisés comme standard.

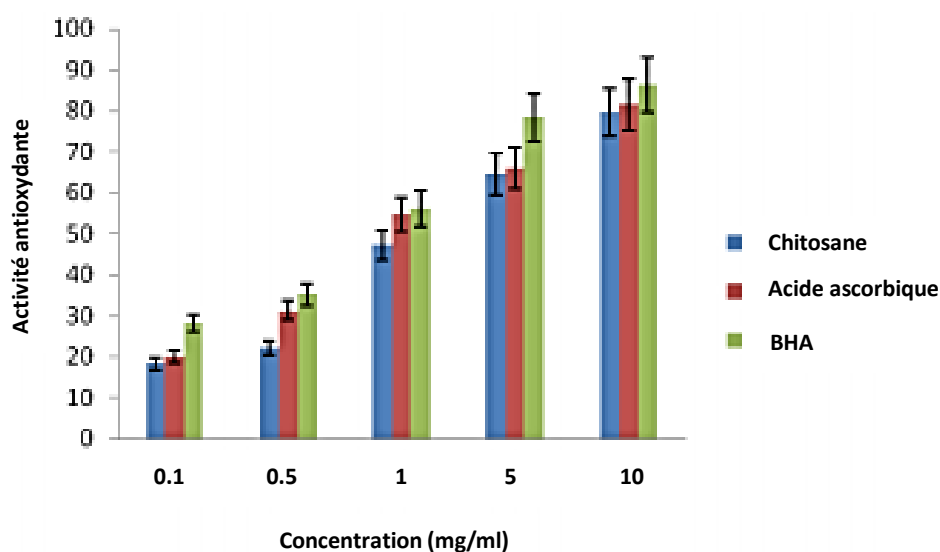


Figure 11. Effets de piégeage du chitosane de crabe, de l'acide ascorbique et du BHA sur l'activité antioxydante totale (Prabu et Natarajan, 2012).

1.2.1.3. Discussion

Les résultats obtenus par (Prabu et Natarajan, 2012), confirment plusieurs travaux de recherche effectués auparavant.

Yen et *al.*, (2008) ont rapporté que le chitosane de crabe présentait des activités antioxydantes modérées à élevées de 58,3 à 70,2% à 1mg/ml et des activités antioxydantes élevées de 79,9 à 85,2% à 10 mg /ml.

Dans la présente étude, le chitosane a montré une activité antioxydante constante dans sa progression avec une concentration accrue. Elle était de 18,37 à 79,58% allant de 0,1 à 10 mg/ml.

Cependant les valeurs obtenues sont inférieures à celui du chitosane fongique, ce qui peut être expliqué par la corrélation de cette activité avec le temps de désacétylation. .

Dans cette activité, un mécanisme important d'antioxydant implique le piégeage des radicaux hydrogène. Le DPPH a un radical d'hydrogène libre et présente une absorption caractéristique à 517 nm (Brand et *al.* 1995). Après avoir rencontré les piègeurs de radicaux protons, la couleur violette de la solution de DPPH s'estompe rapidement (Yamaguchi et *al.*, 1998).

1.2.2. Résultats et discussion de l'article rapporté par (Rajalakshmi, Krithiga et Jayachitra), portant sur l'activité antioxydante du chitosane isolé des carapaces de crevettes. *In Middle-East Journal of Scientific Research 16 (10): 1446-1451.*

1.2.2.1. Résultats de la capacité de piégeage des radicaux DPPH

La figure 12, montre le potentiel antioxydant total de piégeage du DPPH, où le BHA et l'acide ascorbique, sont utilisés comme piègeurs positifs à différentes concentrations.

Le chitosane s'est avéré être aussi bon dans cette activité de piégeage des radicaux DPPH, signe d'une activité antioxydante aussi puissante que les témoins positifs.

L'activité de piégeage des radicaux a été observée dans l'ordre suivant : BHA, Acide ascorbique et chitosane.

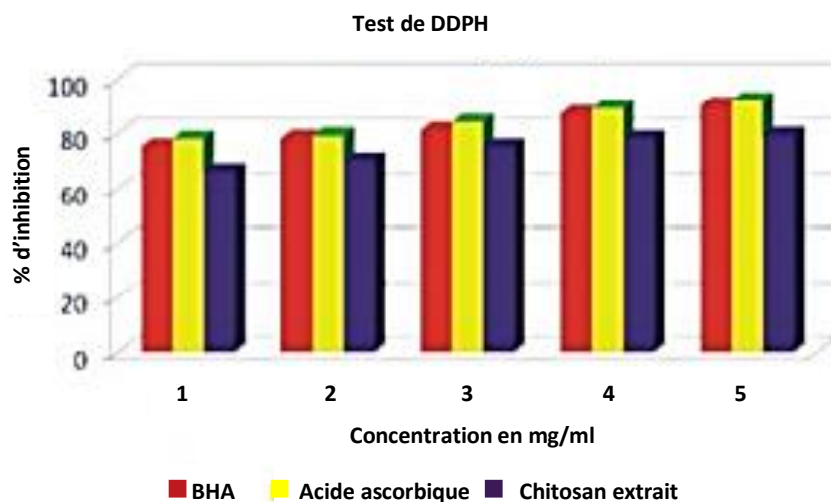


Figure 12. Test de piégeage des radicaux DPPH (Rajalakshmi et *al.*, 2013).

1.2.2.2. Discussion

Les activités antioxydantes du chitosane et de ses dérivés sont régies par la présence de groupes hydroxyle et amino actifs, qui peuvent réagir avec les radicaux libres.

Rajalakshmi et *al.* (2013), ont démontré que le chitosane extrait de la chitine de coquille de crevette, dissous dans de l'acide acétique à 1,5%, avait une puissante activité antioxydante. Le chitosane extrait d'écrevisses et de coquilles de crevettes, ayant un DD de 87% et 92%, respectivement, dissous dans 1% d'acide acétique, montrent une activité de piégeage des radicaux DPPH plus élevée que le chitosane commercial (Giannakas et *al.*, 2019).

Conclusion

Conclusion

Les polymères naturels, notamment la chitine et le chitosane, peuvent permettre de proposer différentes solutions pour des applications aussi diverses que celles de l'agroalimentaire, la dépollution des eaux, la catalyse ou l'emballage.

Trouvés en proportion élevée dans les coproduits marins, tels les carapaces de crevettes, de crabes, de langoustes ou d'écrevisses, un processus de valorisation de ces coproduits s'est avéré nécessaire pour les extraire et en tirer profit en tant que valeur ajoutée dans plusieurs produits élaborés.

Compte tenu de l'état des connaissances scientifiques par rapport aux multiples propriétés fonctionnelles du produit (qui retient particulièrement l'attention des industriels), nous nous sommes fixé comme objectif d'essayer d'évaluer une de ces propriétés fonctionnelles, à savoir, l'activité antioxydante.

A travers l'examen de plusieurs articles scientifiques, ayant pour objectif d'étudier cette activité liée au chitosane, nous avons constaté que les résultats obtenus confirment la possession de cette biomolécule de l'activité recherchée.

L'activité antioxydante a été déterminée par un ensemble de tests, dont le test de piégeage des radicaux DPPH qui a été réalisé pour différentes concentrations de chitosane, en comparaison avec d'autres piégeurs positifs, l'acide ascorbique et le BHA.

Sur cette base d'étude, la conclusion générale serait que le chitosane peut être utilisé avec succès comme antioxydant, soit comme additif alimentaire, soit comme film comestible. Cependant il est à considérer que cette activité est proportionnelle à la concentration de chitosane. L'influence du poids moléculaire et du degré de désacétylation doit être prise en compte (Narvena et *al.*, 2017).

Comme perspective de recherche et afin de promouvoir l'utilisation de cette matière première, des prospections approfondies sur sa caractérisation (RNM) devraient être adressées pour une meilleure application. Une meilleure connaissance des relations structures-fonctions, apparaît aussi essentielle pour une bonne maîtrise d'utilisation dans des niches technologiques encore peu occupées.

Références

Bibliographiques

Références bibliographiques

- **ALJAWISH A., 2013** : Fonctionnalisation Enzymatique du Chitosane par des Composés Phénoliques : Evaluation des Propriétés Biologiques et Physico-chimiques de ces Nouveaux Biopolymères, En vue d'obtenir le grade de Docteur de l'Université de Lorraine Spécialité : Procédés Biotechnologiques et Alimentaires, Université de Lorraine (UL), p 37.
- **ANNOUAR S, SOUFIANE A, MOUNTADAR M., 2005** : Etude de la Dénitratation par des Adsorbats Naturels (Chitine et Chitosane), Déchets - Revue Francophone d'Ecologie Industrielle -n°37- 1er trimestre 2005 - Reproduction Interdite, Université d'El Jedida – Maroc, p34.
- **ARAIZA R., 2006** : Hydrogels Physiques de Chitosane sous forme de Macro-fibres Creuses et Multi-membranaires, Mise en œuvre et Etude Microstructurale, Thèse de Doctorat, Université Claude Bernard Lyon.
- **ARKOUN M., 2017** : Elaboration de Nouveaux Biomatériaux Antibactériens à Base de Chitosane par le Procédé d'Electrofilage, Thèse Présentée en vue de l'Obtention du Diplôme de Docteur (Génie-chimique), p15.
- **ARROUZE F, ESSAHLI M, RHAZI M, DESBRIERES J, TOLAIMATE A., 2016** : Chitin and Chitosan: Study of the Possibilities of their Production by Valorization of the Waste of Crustaceans and Cephalopods Rejected in Essaouira, Journal of Materials and Environmental Sciences ISSN : 2028-2508, JMES, 2017 Volume 8, Issue 7, Page 2251-2258.
- **BACHIR H T, DJARI H, RAMDANI Y., 2019** : Extraction et Optimisation du Degré d'Acétylation du Chitosane, Mémoire de Master, Spécialité : Péetrochimie, Université Echahid Hamma Lakhdar, el Oued, p.7.
- **BERTHE F C J, PERNAS M, ZERABIB M, HAFFNER P, THEBAULT A, FIGUERAS, A J., 1998** : Experimental Transmission of *Marteilia refringens* with Special Consideration of the Life Cycle, Diseases of Aquatic Organisms (34) : 135-144.
- **BRAND W, CUVELIER, BERSET C., 1995** : Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity, Food Science and Technology. 1995; 28: 25-30.
- **BRAULT G., 2009** : Caractérisation d'une Nouvelle Activité Glycosidique de l'Acétyl-Xylane Estérase A de *Streptomyces lividans*, Mémoire Présenté pour l'Obtention du Grade de Maître ès Sciences (M.Sc) en Microbiologie Appliquée, Université du Québec, INRS, Institut Armand Frappier, p15.

- **CAILLAU M., 2017** : Nanotechnologie Verte : des Polymères de la Biomasse comme Résines Eco-efficientes pour la Lithographie, Thèse de Doctorat de l'Université de Lyon, opérée au sein de l'Ecole Centrale de Lyon, Ecole doctorale : Electronique, Electrotechnique et Automatique – ED 160 Spécialité : Micro et Nanoélectronique, p32.
- **CHEUNG R C, WONG J H, CHAN W Y., 2015** : Chitosan: An Update on Potential Biomedical and Pharmaceutical Applications. *Mar Drugs*, 13(8), 5156-5186.
- **CHIRCOV S N., 2002** : The Antiviral Activity of Chitosan (Review). *Applied Biochemistry and Microbiology*, Vol. 38, No. 1, pp. 5–13.
- **COLLIN G., 2011** : Chimiste, Revue N°3, Volume 26 de l'Ordre des Chimistes du Québec, p.11, 12.
- **CRINI G, BADOT P M, CRINI N M, 2010** : « Traitement des Eaux par du Chitosane : Intérêts, Méthodes et Perspectives ». *Techniques de l'ingénieur*, Paris, Lavoisier, RE 126-1 à RE 126-13.
- **CRINI G, BADOT P M, GUIBAL E., 2009** : Chitine et Chitosane, du Biopolymère à l'Application, Ouvrage, Presses Universitaires de Franche Compté, Université de Franche – Compté 305p.
- **CUERO R G., 1999** : Antimicrobial Action of Exogenous Chitosan., *EXS* (87) : 315-333.
- **DELANNOY C, COQUELLE M., 2017** : Valorisation des coproduits marins, publication.
- **DIMA C, GITIN L, ALEXE P, DIMA S., 2013** : Encapsulation of Coriander Essential Oil in Alginate and Alginate/Chitosan Microspheres by Emulsification External Gelation Method. Inside Food Symposium, Leuven, Belgium.
- **ESCUDERO-OÑATE C, FRANCES M E., 2017** : A Review of Chitosan-Based Materials for the Removal of Organic Pollution from Water and Bioaugmentation, Reviewed : March 16th 2018 Published : July 18th 2018, DOI : 10.5772/intechopen.76540.
- **ETIMOSUNDJA J P M., 2017** : Biologie et Ecologie de la Crevette *Macrobrachium sollaudii* de Man 1912 (Palaemonidae) du Ruisseau Avokoko à Kisangani, Rd Congo, Université de Kisangani, Faculté des Sciences p13.
- **GHORAB I., 2016** : Evaluation de la Valeur Nutritionnelle et Effets de Facteurs Environnementaux chez les Crustacés, Thèse de Doctorat en Sciences, Spécialité : Biologie Animale, Université Badji Mokhtar, Annaba, p 6.

- **GILLET B., 2008** : Document Technique sur les Pêches de la FAO. N° 475. Rome, FAO. 331 p.
- **HADRA F., 2018** : Préparation de Chitosane à partir de Crustacés Locaux et son Emploi dans la Coagulation-Floculation de Suspensions de Bentonite, p10, Mémoire de Master Présenté pour l'Obtention du Grade de Master en Chimie Option : Chimie Appliquée, Université de Mostaganem.
- **HASSAINIA A., 2018** : Obtention du Biopolymère «Chitine» à partir du Champignon «*Agaricus bisporus*» : Extraction et Caractérisation, Présentée pour Obtenir le Grade de : Docteur en Sciences, Spécialité : Génie des Procédés, Université 8 Mai 1945 Guelma Faculté des Sciences et de la Technologie Département de Génie des Procédés.
- **HROMIS, NEVENA M. H, VERA L, LAZIC, SENKA Z. POPOVIC, DANIJELA Z, SANDRA N., 2017** : Antioxidative Activity of Chitosan and Chitosan Based Biopolymer Film Bulut University of Novi Sad, Faculty of Technology, Serbia, Food and Feed Research, 44 (2), 91-100.
- **HUTMACHER D, GOH J, TEOH S., 2001** : "An Introduction to Biodegradable Materials for Tissue Engineering Applications," Annals-Academy of Medicine Singapore, Vol. 30, pp. 183-191.
- **ISLAM S, BHUIYAN M R, ISLAM M., 2017** : Chitin and Chitosan: Structure, Properties and Applications in Biomedical Engineering. *Journal of Polymers and the Environment*, 25(3), 854-866.
- **JAFFRÈS E., 2009** : Caractérisation Moléculaire de l'Ecosystème Microbien Complexe de la Crevette Cuite et Etude des Flores d'Altération, Thèse de Doctorat, Discipline : Physiologie et Biologie des Organismes Spécialité : Microbiologie, Université de Nantes, Faculté des Sciences et Techniques, p.5, 9.
- **GIANNAKAS A, SALMAS C, LEONTIOU A, TSIMOGIANNIS D, BRAOUCHLI J, 2019** : Novel LDPE/Chitosan Rosemary and Melissa Extract Nanostructured Active Packaging Films, Publication, ResearchGate.
- **KEONG JUN H, SOOK KIM J, KYOON NO H, MEYERS S P., 1994** : Chitosan as a Coagulant for Recovery of Proteinaceous Solids from Tofu Wastewater. *J. Agric. Food Chem.* 42, 1834.
- **KOUHOUNDJI N., 2012** : Utilisation des SIG (Système d'Information Géographique) dans l'Etude de la Répartition Géographique des Crevettes Penaeidae dans le lac Nokoue à So- Ava (Bénin), par l'Université d'Abomey- Calavi - Master en Géo-information et ses Applications à la Gestion Intégrée des Eaux et des Ecosystèmes.

- **KUMAR A B V, VARADARAJ M C, GOWDA L R, THARANATHAN R N., 2005 :** "Characterization of Chito-oligosaccharides Prepared by Chitosanolytic with the Aid of Papain and Pronase, and their Bactericidal Action Against *Bacillus cereus* and *Escherichia coli*," Biochemical Journal, vol. 391, pp. 167-175.

- **KUMARI S, RATH P, SRI HARI KUMAR A, TIWARI T N., 2015 :** « Extraction and Characterization of Chitin and Chitosan from Fishery Waste by Chemical Method », Environmental Technology and Innovation, vol. 3, p. 77-85.

- **KURITA K., 2006 :** Chitin and Chitosan, Functional Biopolymers from Marine Crustaceans. Mar. Biotechnol. 8, 203–226.

- **LECLERC P., 1997 :** Caractérisation Microbiologique des Composts à Base de Résidus Chitineux, Mémoire Présenté au département de Biologie en vue de l'Obtention du Diplôme du grade de Maître ès Sciences (M.Sc.), Faculté des Sciences, Université de Sherbrooke, p 2 -5.

- **MERINOV, 2013 :** Coproduits de Crevette Nordique, Coproduits Bruts, Centre d'Innovation de l'Aquaculture et des Pêches du Québec, Réinventer la mer.

- **OFIMER., 2001 :** Le marché des Crevettes. Note présentée au Conseil de Direction de l'OFIMER du 26 septembre 2001.

- **PAYET, 2005 :** Viscoélasticité et Structure de Gels à base de Chitosane - Relations avec les Propriétés Diffusionnelles de Macromolécules dans ces Bio-gels, Thèse de Doctorat de l'Université Paris 7, Spécialité : Physique Macroscopique, p 8.

- **PRABU K, NATARAJAN E., 2012 :** *In Vitro* Antimicrobial and Antioxidant Activity of Chitosan Isolated from *Podophthalmus* Vigil Centre of Advanced Study in Marine Biology, Annamalai University, Parangipettai - 608 502, India, Journal of Applied Pharmaceutical Science Vol. 2 (9), pp. 075-082.

- **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.

- **RAJALAKSHMI A, JAYACHITRA A, KRITHIGA N., 2013 :** Antioxidant Activity of the Chitosan Extracted from Shrimp Exoskeleton, Article in Middle East Journal of Scientific Research 16(10) : 1446 – 1451.

- **RANDRIAMAHATODY Z., 2011 :** Valorisation Biotechnologique des Coproduits de Crevette : Utilisation de la Protéolyse Enzymatique pour des Applications Avicoles à Madagascar, Thèse de Doctorat en Sciences de la Vie Spécialité: Biochimie (Biochimie Appliquée aux Sciences de l'Alimentation et à la Nutrition).

- **SCHIPPER N G M, OLSON S, HOOGSTRATE J A, DEBOER A G, VARUM K M, ARTURSON P., 1997** : Chitosans as Absorption Enhancers for Poorly Absorbable Drugs. 2 Mechanism of Absorption Enhancement. *Pharmaceutical Research*, p.923-929.
- **TRUONG1 T O, HAUSLER R, MONETTE F, NIQUETTE P., 2006** : Valorisation des Résidus Industriels de Pêches pour la Transformation de Chitosane par Technique Hydrothermo-chimique, Institut des Sciences de l'Environnement, Université du Québec à Montréal, École de Technologie Supérieure (ETS), *Revue des Sciences de l'Eau* 20(3) (2007) 253-262.
- **TSOTETZO H., 2017** : Elaboration de Nano-composites et Synthèse de Graphène Dopé, Thèse de Doctorat, Spécialité : Chimie, Université de Normandie, p 9/218.
- **VENUGOPAL V., 2001** : In *Marine Polysaccharides. Food Applications* (ed. Venugopal, V.) 61–87 (CRC Press, 2011).
- **VESINA C., 2017** : Des Crevettes, des Champignons... et une Molécule aux Mille Fonctions, Séminaire : PLU 6048 – Connaissances et Innovations en Santé, Université de Montréal.
- **VINSOVA J, VAVRICOVA E., 2011** : Chitosan Derivatives with Antimicrobial, Antitumor and Antioxydant Activities – A Review. *Current Pharmaceutical Design*, p.3596 – 3607.
- **YAMAGUCHI T, TAKAMURA H, MATOBA T, TERAO J., 1998** : HPLC Method for Evaluation of the Free Radical-Scavenging Activity of Foods by Using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Biosci Biotechnol Biochem*; 62: 1201-1204.
- **YEN M, YANG J, MAU J., 2008** : Antioxidant Properties of Chitosan from Crab Shells. *Carbohydrate Polymers*; 74, 840-844
- **ZEMMOURI H., 2008** : Le Chitosane ... est-il la molécule du siècle ? E- mail : hzemmouri@cder.dz Division Bioénergie et Environnement, Rapport, 2008, p.3, 4.
- **ZITOUNI M., 2013** : Sélection et Caractérisation d'une Nouvelle Chitosanase Thermostable, Thèse en vue de l'obtention du grade de docteur ès sciences (Ph.D.), Faculté des Sciences Université de Sherbrooke, Faculté des Sciences, p17.

إن الهدف من هذه الدراسة، هو محاولة تحديد فعالية الكيتوزان المضاد للأكسدة والذي تم الحصول عليه من قشور الجمبري بعد استخلاصه عن طريق سلسلة من التفاعلات الكيميائية التي تم استحداثها عبر 4 مراحل (نزع الأملاح المعدنية، نزع البروتين، التبييض ونزع جذور الأستيل).

فعالية الكيتوزان المضادة للأكسدة والمحضر بتركيزات مختلفة تم اختبارها خارج الوسط الحي عن طريق اختبار الجذور الحرة (DPPH) واختبار النشاط الكلي لمضادات الأكسدة. في هذه التجربة، سيتم استخدام حمض الأسكوربيك و BHA كشواهد إيجابية على سبيل المقارنة.

لكن حالة الاحتواء المرتبطة بجائحة (كوفيد - 19) تسببت في إلغاء التجربة واستبدالها بدراسة بعض المقالات العلمية المتعلقة بالموضوع.

أظهرت النتائج المتحصل عليها في هذه المقالات والتي تم إثباتها من خلال الاختبارات المختلفة التي أجريت، أن الكيتوزان له نشاط كبير كمضاد للأكسدة، ولكنه يعتمد في ذلك على وزنه الجزيئي ودرجة نزع جذور الأستيل. بالمقارنة مع الشواهد الإيجابية المضادة للأكسدة، فعالية الكيتوزان هي بنسبة أقل.

بفضل قوته المضادة للأكسدة، يمكن استخدام الكيتوزان في العديد من التطبيقات الغذائية، إما كإضافة أو كفيلم صالح للأكل.

الكلمات المفتاحية : قشور الجمبري، الكيتوزان، النشاط المضاد للأكسدة، DPPH ، حمض الأسكوربيك، BHA

Résumé

L'objectif de cette étude, consiste à essayer de déterminer l'activité antioxydante du chitosane issu des carapaces de crevettes et ce après avoir effectué l'extraction de ce polymère par une procédure chimique, réalisée en 4 étapes (déméralisation, déprotéinisation, blanchiment et désacétylation).

Le pouvoir antioxydant du chitosane préparé à différentes concentrations, sera évalué *in vitro* par le test de piégeage des radicaux libres (DPPH) et le test de l'activité antioxydante totale. Ici, l'acide ascorbique et le BHA seront utilisés comme témoins positifs de comparaison.

Cependant, l'état de confinement lié à la pandémie du (Covid - 19) a fait que l'expérimentation soit annulée et sera remplacé par l'étude de quelques articles scientifiques en rapport avec le thème.

Les résultats trouvés dans ces articles et prouvés par les différents tests effectués, ont montré que le chitosane possède une activité antioxydante conséquente, mais qui dépend de son poids moléculaire et du degré de désacétylation de la molécule. En comparaison avec les témoins positifs piègeurs des radicaux libres (DPPH), elle reste tout de même inférieure.

Grâce à son pouvoir antioxydant, Le chitosane peut être utilisé dans plusieurs applications alimentaires, soit comme additif ou comme un film comestible.

Mots clés : Carapaces de crevettes, Chitosane, Activité antioxydante, DPPH. Acide ascorbique, BHA

Abstract

The objective of this study is to try to determine the antioxidant activity of chitosan obtained from shrimp shells and this after having extracted this polymer by a chemical process, carried out in 4 stages (demineralization, deproteinization, bleaching and deacetylation).

The antioxidant power of chitosan prepared at different concentrations will be evaluated *in vitro* by the free radical scavenging test (DPPH) and the test of total antioxidant activity. Here, Ascorbic acid and BHA will be used as positive comparison controls.

However, the state of containment linked to the (Covid - 19) pandemic, caused the experiment to be canceled and will be replaced by the study of a few scientific articles related to the theme.

The results found in these articles and proven by the various tests carried out, have shown that chitosan has significant antioxidant activity, but which depends on its molecular weight and the degree of deacetylation of the molecule. In comparison with the positive free radical scavenger controls (DPPH), it is still lower.

With his antioxidant activity, Chitosan can be used in several food applications, either as an additive or as an edible film.

Key words : Shrimp shells, Chitosan, Antioxidant Activity, DPPH, Ascorbic acid, BHA