

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Ecole Nationale Polytechnique



Département de génie de l'environnement

**Laboratoire des Biotechnologies Environnementales & de Génie des Procédés
(BIOGEP)**

**Mémoire de projet de fin d'études
pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en Génie de l'Environnement**

Thème

**Elaboration d'une membrane poreuse:
caractéristiques et performances**

BENAZZOUZ Mohamed Kamel
Sous la direction de Mr.N.Mameri,
Professeur Présenté et soutenue
Publiquement le 03 Juillet 2019

Composition du Jury:

Président du Jury: Mr M.DROUICHE
Examineur: Mr M.S.BENHABILES
Promoteur: Mr N.Mameri
Promotrice: Mme F.BALI

Professeur, ENP
M.C.A, ENPEI
Professeur, ENP
Doctorante, ENP

ENP 2019

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Ecole Nationale Polytechnique



Département de génie de l'environnement

**Laboratoire des Biotechnologies Environnementales & de Génie des Procédés
(BIOGEP)**

**Mémoire de projet de fin d'études
pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en Génie de l'Environnement**

Thème

**Elaboration d'une membrane poreuse:
caractéristiques et performances**

BENAZZOUZ Mohamed Kamel
Sous la direction de Mr.N.Mameri,
Professeur Présenté et soutenue
Publiquement le 03 Juillet 2019

Composition du Jury:

Président du Jury: Mr M.DROUCHE
Examineur: Mr M.S.BENHABILES
Promoteur: Mr N.Mameri
Promotrice: Mme F.BALI

Professeur, ENP
M.C.A, ENPEI
Professeur, ENP
Doctorante, ENP

*A mes parents
qui ont toujours été présents
cet effort est le fruit de vos souhaits
aujourd'hui exaucés.*

Remerciements

A la fin de ce travail je tiens à remercier Dieu miséricordieux de m'avoir donné la patience pour pouvoir mener ce travail à terme.

Ce travail a été effectué au laboratoire de recherche de Biotechnologie de l'Ecole Nationale Polytechnique, sous la direction du Professeur Mameri Nabil à qui, J'adresse ma profonde reconnaissance pour son aide et son soutien.

J'adresse mes remerciements à Madame BALI Fatima Doctorante à l'ENP pour m'avoir encadré et qui a fourni des efforts énormes, par ses informations ses conseils et ses encouragements pendant toute la réalisation de ce travail.

Je tiens également à remercier le professeur DROUCHE Madani pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury.

J'adresse mes vifs remerciements aussi à Monsieur BENHABILES Mohamed Salah Maitre de conférences à l'Ecole Nationale Préparatoire aux Etudes d'Ingénieur de m'avoir fait l'honneur de juger ce travail.

Merci enfin à tous ceux qui, de près ou de loin, m'ont aidé et contribué à la réalisation de ce travail.

الهدف الرئيسي من هذا العمل هو تطوير منتج بحري(درع الجمبري) للحصول على الشيتوزان الذي سيتم استخدامه لإنتاج أغشية الترشيح الفائق. تمكننا من تحويل الشيتوزان إلى غشاء بفضل إضافة إثنين من الملدنات:البولي ايثيلين غليكول و الجليسرين. في هذا السياق ،تم تطوير الأغشية عن طريق خلط البوليميرات الثلاثة، بنسب محددة. ثم اجرينا إختبارات فيزيو-كيميائية مثل قياس السماكة، إختبارات الشد أحادية المحور للسلوك الميكانيكي و الأشعة تحت الحمراء لقياس درجة الأستلة. اضافة الملدنات كان كفيلا بتحسين ليونة الأغشية. أظهرت دراسة الإنتفاخ أن إضافة ٢ من الملدنات بتركيزات خفيفة يقلل من ميل امتصاص الشيتوزان الرطوبة. من النتائج التي تم الحصول عليها يمكننا أن نؤكد التوافق التام و قابلية خلط البوليميرات الثلاثة . الكلمات المفتاحية: الشيتوزان ، الربط ، الجلسرين ، الترشيح الفائق.

Abstract:

The main objective of this work is to develop a marine by-product (shrimp shell) to obtain chitosan that will be used to produce ultrafiltration membranes. The transformation of chitosan into a membrane has been possible thanks to the addition of two plasticizers: polyethylene glycol (PEG) and glycerol. In this context, membranes were developed by mixing the three polymers, wet, to well-defined proportions and then we carried out physicochemical tests such as the measurement of the thickness, the tests of uniaxial traction for mechanical behavior and FTIR to obtain the DD.

The introduction of PEG and Glycerol has been able to improve the ductility of membranes by making them more elastic. The swelling study showed that the addition of the 2 plasticizers reduced the moisture absorption tendency of chitosan at low concentrations. From the results obtained we can affirm the perfect compatibility and miscibility of the three polymers.

Key words : chitosane , PEG,Glycerol ,ultrafiltration

Résumé:

L'objectif principal de ce travail est de valoriser un sous-produit marin (la carapace de crevette) pour obtenir du chitosane qui sera utilisé pour produire des membranes d'Ultrafiltration. La transformation du chitosane en membrane a été possible grâce à l'ajout de deux plastifiants: le polyéthylène glycol (PEG) et le Glycérol. Dans cette optique, des membranes ont été élaborées en mélangeant les trois polymères, par voie humide, à des proportions bien définies et ensuite nous avons réalisé des tests physico-chimiques tels la mesure de l'épaisseur, les tests de traction uni-axiale pour le comportement mécanique et le FTIR pour l'obtention du DD.

L'introduction du PEG et du Glycérol a pu améliorer la ductilité des membranes en les rendant plus élastiques. L'étude du gonflement a montré que l'ajout des 2 plastifiants réduisait la tendance d'absorption d'humidité du chitosane pour de basses concentrations. A partir des résultats obtenus nous pouvons affirmer la parfaite compatibilité et miscibilité des trois polymères.

Mots clés: Chitosane, PEG, Glycérol, Ultrafiltration.

Table de matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Abréviations

Unités et symboles

• INTRODUCTION.....	13
• I- LES POLYMÈRES	17
• I.1.Les biopolymères	17
• I.1.1 Les polysaccharides	19
• I.1.1.1 La cellulose	20
• I.1.1.2 L'amidon.....	21
• I.1.2 Les protéines	22
• I.1.3 Propriétés des biopolymères.....	23
• I.2. Les polymères synthétiques.....	24
• I.2.1 Polyéthylène glycol (PEG).....	24
• I.2.2 Glycérol	25
• I.3. LA CHITINE ET LE CHITOSANE	26
• I.3.1 Historique.....	26
• I.3.2 Structure de la chitine et du chitosane	27
• I.3.3 Extraction de la chitine.....	28
• I.3.3.1 La déminéralisation.....	28
• I.3.3.2 La déprotéinisation.....	29
• I.3.3.3 Le blanchiment.....	29
• I.3.4 Production de chitosane à partir de la chitine: la désacétylation.....	30
• I.3.5 Propriétés physico-chimiques de la chitine et du chitosane	31
• I.3.5.1 Le degré d'acétylation (DA).....	32
• I.3.5.2 La solubilité.....	32
• I.3.5.3 Le poids moléculaire	33
• I.3.6 La plastification du chitosane	34
• I.3.7 Applications de la chitine et du chitosane	35
• II. ULTRAFILTRATION.....	36
• II.1. Définition.....	36
• II.2 Les membranes d'ultrafiltration	37
• II.2.1 Matériaux et configurations membranaires	38

• II.2.2 Caractéristiques des membranes	39
• II.2.2 .a)- Perméabilité d'une membrane	39
• II.2.2 .c)- Résistance d'une membrane	40
• II.2.2 .d)- Seuil de coupure	40
• II.3. Elaboration des membranes à base de biopolymères	41
• II.3.1 Voie sèche.....	41
• II.3.2 Voie humide	42
• II.4. Modes de fonctionnement de l'UF	42
• II.4.1 Mode en discontinu.....	43
• II.4.2 Mode en continu	43
• II.5 Les conditions opératoires	44
• III. MATERIELS ET METHODES :	47
• III.1 MATÉRIEL.....	47
• III.1.1 Matière première	47
• III.1.2 Réactifs.....	47
• III.1.3 Equipement.....	48
• III.2 MÉTHODES EXPÉRIMENTALES	48
• III.2.1 Production de la chitine et du chitosane.....	48
• III.2.1.1 Matière première	48
• III.2.2 Extraction de la chitine	48
• III.2.2.1 Prétraitement de la carapace	48
• III.2.2.2 La déminéralisation	49
• III.2.2.3 La déprotéinisation	49
• III.2.2.3 La désacétylation	50
• III.2.3.1 Viscosité du chitosane brut	52
• III.2.4 Elaboration des membranes	53
• III.2.4.1 Préparation des membranes à base de chitosane brut.....	53
• III.2.4.2 Plastification des membranes à base de chitosane brut	54
• III.2.5 Caractéristiques et méthodes d'évaluation	54
• III.2.5.1 Epaisseur des films	54
• III.2.5.2 Propriétés mécaniques	54
• III.2.5.3 Caractérisation d'une membrane par FTIR	55
• III.2.5.5 Etude de gonflement	56
• III.3 Conception d'une cellule de filtration:.....	56

• IV RÉSULTATS ET DISCUSSION	58
• IV.1.Extraction de la chitine.....	58
• IV.1.1 Déminéralisation	58
• IV.1.2 Déprotéinisation	58
• IV.2 Production de chitosane à partir de la chitine la désacétylation:	59
• IV.2.1.1 Détermination du degré de désacétylation (D.D) par FTIR :	60
• IV.3 Test de solubilité et de viscosité	63
• IV.4. Caractéristiques des membranes élaborées	63
• IV.4.1 Aspect physique et épaisseur	63
• IV.4.2 Test de traction mécanique :	65
• IV.4.3 Test de gonflement	66
• IV.4 Test de tenue à la pression transmembranaire:	68
• V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	70
• Références bibliographique	71

Liste des figures:

1. Les Polymères:

Figure I.1 : modèle schématique de la synthèse d'un polymère	17
Figure I.2 : Représentation schématique d'une chaîne de cellulose	20
Figure I.3 : Structure chimique de l'amylose (a) et de l'amylopectine (b).....	21
Figure I.4 : Représentation des enchaînements des fonctions amides des protéines.....	22
Figure I.5 : Structures chimiques de la chitine (a) et du chitosane (b).....	27
Figure I.6 : Procédé d'extraction de la chitine et du chitosane	31

II. Ultrafiltration:

Figure II.1 : Filtration en mode tangentielle (a) et en mode frontale (b).....	37
Figure II.2 : Les différents types de membranes (a) plane, (b) spiralée, (c) tubulaire	39
Figure II.3 : Séparation membranaire en mode discontinu avec recirculation.....	43
Figure II.4 : Séparation membranaire en mode continu avec recirculation.....	44

III. Matériels et Méthodes:

Figure III.1 : Transformation de la chitine en chitosane.....	49
Figure III.2 : les étapes d'obtention du chitosane à partir de la carapace de crevette.....	51
Figure III.3 : l'éprouvette utilisée lors le test de traction uni-axiale.....	54
Figure III.4.a : La cellule de filtration.....	56
Figure III.4 .b : La cellule de filtration avant démontage.....	56

IV. Résultats et discussions:

Figure IV.1 : Spectre IR du chitosane brut.....	59
Figure IV.2 : Spectre IR du chitosane commercial.....	60
Figure IV.3 : Membrane de chitosane brut.....	63

Figure IV.4: Courbes de contrainte-déformation des membranes.....	64
Figure IV.5: courbes cinétiques de gonflement des membranes.....	66
Figure IV.6: Etat de la membrane après le test.....	68

Liste des tableaux:

I. Les Polymères:

Tableau I.1: Les différentes familles de biopolymères.....18

Tableau I.2: Sources potentielles de chitine25

IV. Résultats et discussions:

Tableau IV.1: Principales bandes d'absorption IR du chitosane brut et du chitosane.....59

Tableau IV.2: Caractéristiques physico-chimiques des deux chitosanes.....61

Tableau IV.3: Epaisseur moyenne des membranes préparées.....62

Tableau IV.4: les propriétés mécaniques des membranes.....64

Tableau IV.5: Le pourcentage de gonflement des membranes.....66

ABREVIATIONS:

DA: degré d'acétylation.

DD: degré de désacétylation.

HR: Humidité relative.

FTIR: Infrarouge à transformée de Fourier.

PEG: polyéthylène glycol.

UF: ultrafiltration.

UNITES ET SYMBOLES:

ϵr : Allongement à la rupture.

σr : Contrainte de la rupture.

h: heure.

min: minute.

v: volume.

w: masse.

w/v: masse par volume.

KDa: kilo Dalton.

pH: potentiel hydrogène.

η : Viscosité intrinsèque.

Mv: poids moléculaire moyen viscosimétrique.

k et a: paramètres caractéristiques du système polymère-solvant

R: rétention

C₀: la concentration de l'espèce à retenir dans la solution

C_p: la concentration de la même espèce dans le perméat.

Rm: la résistance hydraulique.

PTM: pression transmembranaire.

Pe: pression appliquée à l'entrée.

Ps: pression appliquée à la sortie.

Pp: pression appliquée à la sortie du perméat

Jv: le flux de péreméation .

$\mu = 0,55.10^{-3}$ Pa.s .

R: la résistance hydraulique totale (sans unité).

b: largeur.

h: épaisseur.

L₀: longueur.

L₃: longueur totale.

L: longueur totale du ruban.

INTRODUCTION

Depuis un demi-siècle, l'industrie chimique puise dans les sources de carbone fossile, pétrole, gaz naturel et charbon, l'essentiel des matières premières indispensables à son développement ; les polymères sont devenus incontournables dans notre vie quotidienne. Ils sont utilisés dans une multitude d'applications et il serait désormais difficile de s'en passer. Cependant la plupart des matériaux polymères sont élaborés à partir du pétrole, et vu que cette ressource est en diminution progressive et l'on atteindra dans les prochaines décennies un pic pour lequel la demande, tirée à la hausse par le développement des pays émergents, sera supérieure à l'offre, faisant grimper toujours plus haut les cours de l'or noir.

L'épuisement inéluctable des réserves pétrolières mais également la prise de conscience des politiques de consommation sur les problèmes environnementaux engendrés par l'exploitation du carbone fossile (émission de gaz à effet de serre) ont suscité un intérêt croissant pour les matières premières renouvelables issues de la biomasse.

De nombreuses molécules organiques telles que des polysaccharides (glycérol et le polyéthylène glycol), des acides (ou esters) gras, et bien d'autres molécules encore, peuvent être extraites de la biomasse. En outre, en ce début du siècle, les enjeux sociétaux et environnementaux liés au changement climatique sont très importants.

C'est pourquoi les polymères naturels reçoivent un intérêt grandissant auprès du monde académique et industriel. Ils sont en abondance, de nature très variée, et présentent souvent des caractéristiques intéressantes. Pourtant pour pouvoir remplacer à l'avenir une part non négligeable des polymères d'origine fossile par des biopolymères, de nombreux défis sont à relever. C'est pour cela que nombreuses études ont été conduites lors de la dernière décennie afin de développer des biopolymères plus performants, mais il reste encore du chemin à parcourir afin qu'ils puissent trouver leur place sur le marché concurrentiel des polymères.

Pour cela, beaucoup de travaux cherchent une alternative moins coûteuse ou des substances plus efficaces comme le gel de silice, les zéolites, les algues, les déchets agricoles (exemple les coques de noix de coco, les gousses de riz..), la chitine, le chitosane et les matériaux argileux (bentonite, kaolinite..) comparés aux charbon actif, ces adsorbants

naturels ont été toujours étudiés avec succès pour l'élimination des polluants des cours d'eau , spécialement pour les métaux lourds et les colorants réactifs (Uzun et al.,2006).

L'emploi d'une opération de séparation membranaire, et plus précisément l'ultrafiltration, seule ou combinée à d'autres opérations unitaires en prétraitement ou post-traitement, est aujourd'hui reconnue comme permettant la production d'une eau de qualité élevée et constante. D'autre part, la filtration membranaire constitue un procédé compact, relativement aisé à entretenir et peu énergivore.

Récemment, les recherches ont été orientées vers les produits chitineux en particulier le chitosane qui apparait le plus attractif économiquement dans le traitement des eaux, grâce à ses propriétés intrinsèques, son abondance et son faible coût. En plus, sa biodégradabilité et de sa biorésorbabilité, deux propriétés primordiales à notre époque où la protection de l'environnement joue un rôle important.

Dans ce contexte, ce projet de fin d'étude a pour objectif principal de convertir la carapace de crevette en chitosane pour fabriquer des membranes d'ultrafiltration. Ces dernières seront produites grâce à l'ajout de deux plastifiants (Glycérol et PEG). Elles seront caractérisées et nous déterminerons les conditions optimales de l'obtention de ces membranes. Des essais d'ultrafiltration seront réalisés à la fin pour déterminer le comportement et les performances de ces membranes.

Ce mémoire est structuré en deux parties :

1. Une étude bibliographique, organisée en deux chapitres :

Le premier chapitre présente des généralités sur les biopolymères : définitions, leur classement, les plus utilisés, ainsi que leurs propriétés. En plus pour le chitosane nous présenterons les procédés d'extraction, les structures chimiques, les propriétés physicochimiques, et les applications. De même, les plastifiants utilisés lors de nos travaux seront présentés.

Le deuxième chapitre traite, succinctement, l'ultrafiltration et ses propriétés.

2. Une étude expérimentale, organisée en deux chapitres :

Le troisième chapitre sera consacré aux produits utilisés, méthodes expérimentales de synthèse, et les différentes techniques de caractérisation employées.

Le quatrième chapitre illustre les résultats obtenus, suivi des interprétations et discussions.

3. Enfin, une conclusion générale sera présentée. Elle résumera les principaux résultats obtenus lors de ces travaux et présentera les perspectives recommandées.

Partie I :
Partie bibliographique

I- LES POLYMÈRES

Un polymère est un enchainement de motifs simples appelés monomères qui peuvent être identiques ou différents (Herman Staudinger.,1953).

Le nombre de motifs de monomères constituant la macromolécule est appelé le degré de polymérisation.

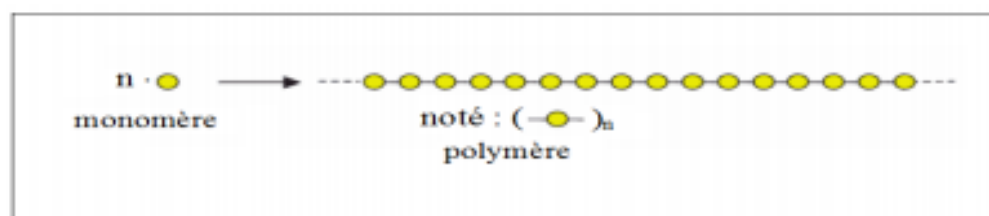


Figure I.1: modèle schématique de la synthèse d'un polymère

La lettre **n** désigne le « degré de polymérisation », noté D.P

Selon les valeurs de **n**, on a:

- pour des valeurs élevées ($n > 100$), on parle de macromolécules,
- lorsque le degré de polymérisation est inférieur à 30, on parle d'oligomère,
- lorsqu'il est supérieur à 30, il s'agit d'un polymère.

Selon l'origine des matières premières et des voies de synthèse, on distingue deux types de polymères: les biopolymères et les polymères synthétiques (Austarheim et al.,2012).

I.1.Les biopolymères

Selon l'UIPAC, Les biopolymères se définissent comme étant des bio-macromolécules synthétisées par des organismes vivants. Et selon l'ADEME (Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie), les biopolymères sont des polymères naturels issus de ressources renouvelables de plantes, d'algues ou d'animaux.

Les biopolymères peuvent aussi être obtenus par polymérisation de monomères naturels et par la fermentation des micro-organismes (Abbasi et al.,2003).

Les biopolymères peuvent être classés en trois familles :

- les polymères issus directement des ressources végétales et animales tels que les polysaccharides, les protéines et les polynucléotides,
- les polymères d'origine bactérienne comme les Polyhydroxyalcanoates (PHA),
- les polymères obtenus indirectement par polymérisation de monomères eux-mêmes issus de ressources végétales comme l'acide lactique, résultants de la fermentation de sucres ou encore des composés monomères réactifs dérivés d'huiles végétales (Boual et al.,2015).

Classes	Description	Exemples de biopolymères
<p>Polysaccharides (Plantes/animaux)</p> <p>Polysaccharides (issus des bactéries)</p>	<p>Glucides ou sucres complexes constitués de plusieurs monosaccharides (glucides ou sucres simples) liés entre eux.</p>	<p>Amidon, Cellulose, Alginate, Chitosane, Agar, Pectine, Gommages, Xanthane, Gellane, Curdlan, Pullulane, Elsinane.</p>
<p>Protéines et polypeptides</p>	<p>Macromolécules biologiques composées d'une ou plusieurs chaînes d'acides aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques.</p>	<p>Polyacide aminé, Collagène Gluten, Caséine, Soja, Glycoprotéine, Zéine.</p>
<p>Polyesters (synthétisés par des bactéries)</p>	<p>Polymères dont les motifs répétitifs de la chaîne principale contiennent la fonction ester.</p>	<p>Poly (acide lactique) (PLA) Polyhydroxyalcanoate (PHA)</p>
<p>Polyphénols</p>	<p>Molécules présentant plusieurs groupements phénoliques.</p>	<p>Lignines, Tanins, Acides humiques</p>
<p>Polynucléotides et nucléotides</p>	<p>Molécules composées de plusieurs nucléotides. Certains nucléotides forment la base de l'ADN et l'ARN.</p>	<p>Adénosine-5'-triphosphate (ATP) Adénosine-5'-monophosphate (AMP)</p>

Tableau I.1 : Les différentes familles de biopolymères (Angone et al.2010)

I.1.1 Les polysaccharides

Les polysaccharides constituent la famille de biopolymères les plus répandus et les plus utilisés. Ils entrent dans la composition de la plupart des cellules (végétales, animales, et microbiennes) (Angone et al.,2010). Parmi les plus connus, on peut citer la cellulose, l'amidon, l'alginate, la chitine et le chitosane.

I.1.1.1 La cellulose

La cellulose représente la molécule biologique la plus abondante sur notre planète. Cette macromolécule glucidique est un élément structural de premier ordre pour la grande majorité des parois végétales. Élément constitutif majeur du bois, la cellulose est également un constituant majoritaire du coton et des fibres textiles telles que le lin, le chanvre, le jute ou la ramie (Suyatma.,2006).

La cellulose est un homopolymère linéaire de résidus glucose de configuration D, connecté selon une liaison glycosidique β , (1 \rightarrow 4) (Figure I.2). La masse molaire de la chaîne de cellulose varie de 50000 à $2,5 \times 10^6$ g.mol⁻¹, en fonction de son origine et du traitement d'extraction utilisé.

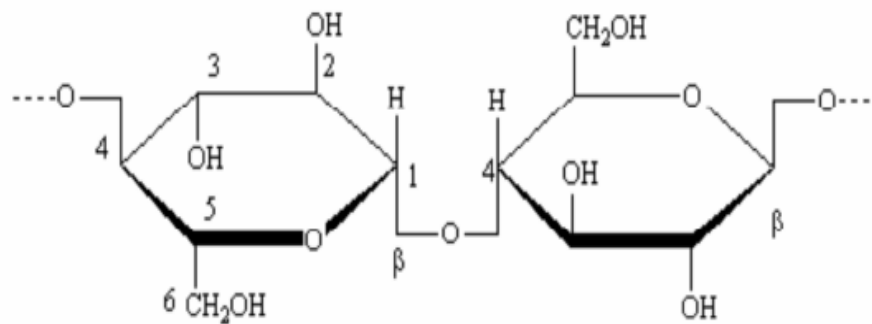


Figure I.2 : Représentation schématique d'une chaîne de cellulose

A cause des interactions très fortes entre les chaînes, la cellulose native est fortement cristalline et insoluble dans l'eau. Pour améliorer sa solubilité dans l'eau et lui conférer des propriétés filmogènes (Pettolino et al.,2006), la cellulose peut être estérifiée ou éthérifiée au niveau des fonctions hydroxyles libres pour aboutir à certains dérivés cellulosiques comme carboxyméthyl cellulose (CMC), hydroxypropyl cellulose (HPC), hydroxypropylméthyl cellulose (HPMC),

La cellulose est très utilisée pour la formation de **films** flexibles et transparents, présentant des propriétés barrières à l'humidité et à l'oxygène non négligeables (Boual et al.,2015). Citons par exemple la **cellophane** qui domine le marché des emballages transparents. La cellophane est constituée de cellulose régénérée, obtenue par extrusion d'une dispersion visqueuse alcaline de xanthate de cellulose dans un bain acide. Le film est obtenu après traitement avec un agent plastifiant (glycérol) et séchage.

I.1.1.2 L'amidon

L'amidon est un composé glucidique bio-synthétisé et la principale source d'énergie pour l'homme et pour la vie animale. Il représente une fraction pondérale importante dans un grand nombre de matières premières agricoles telles que les céréales (30-80% de la matière sèche), les légumineuses (25-50% de la matière sèche) et les tubercules (60-90% de la matière sèche). Son faible prix fait de l'amidon un matériau économiquement intéressant.

L'amidon est un mélange d'amylose, unités glucose unies par des liaisons α , (1 \rightarrow 4), linéaire et souvent en configuration hélicoïdale (Figure I.3) et d'amylopectine très ramifiée (Pettolino et al.,2006).

L'amylopectine contient une partie linéaire formée d'unités glucosidiques liées en α , (1 \rightarrow 4), mais également des ramifications faisant intervenir des liaisons α , (1 \rightarrow 6) toutes les 25 unités glucose en moyenne (Figure I.3).

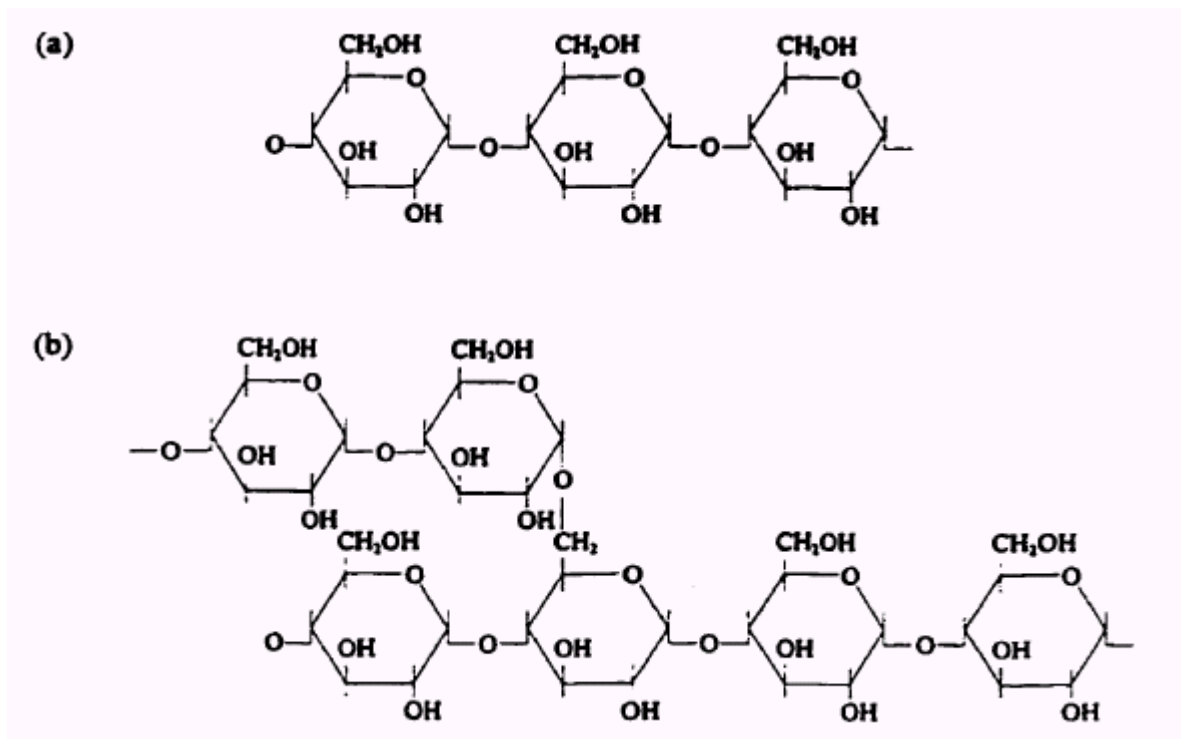


Figure I.3 : Structure chimique de l'amylose (a) et de l'amylopectine (b)

L'amylose et l'amylopectine sont deux parmi les nombreux polysaccharides pouvant former des structures hélicoïdales.

I.1.3 Propriétés des biopolymères

Les biopolymères présentent des propriétés particulièrement intéressantes pour des applications spécifiques dans l'industrie des matières plastiques, dont la biodégradabilité est la plus importante.

a) La biodégradabilité

La biodégradabilité d'un matériel se définit par sa capacité intrinsèque à être dégradé par une attaque microbienne. Cette attaque entraîne une simplification progressive de sa structure et sa conversion finale en eau (H₂O), dioxyde de carbone (CO₂) et/ou du méthane (CH₄) et une nouvelle biomasse (Suyatama.. 2006).

b) La perméabilité

La plupart des biopolymères tels que l'amidon, la cellulose et les protéines sont hydrophiles, ce qui leur confère des propriétés de perméabilité à la vapeur d'eau. Ces propriétés sont dues notamment à la présence de fonctions polaires hydroxyle et/ou amine qui a une forte réactivité avec l'eau par formation de ponts hydrogène (Nina., 2008).

La perméabilité à la vapeur d'eau pourrait se présenter d'une grande utilité dans l'emballage des produits humides leur permettant de continuer de sécher pendant leur stockage.

c) La biocompatibilité et la biorésorbabilité

On dit qu'un matériau est biocompatible lorsque ce dernier serait capable d'assurer une fonction avec une réponse appropriée et sans effets indésirables sur l'environnement biologique dans lequel il est appelé à fonctionner (Nina., 2008)

La réponse biologique d'un matériau dépend de trois facteurs :

- ses propriétés,
- la caractéristique de l'hôte,
- la demande fonctionnelle pour le matériau.

Les biopolymères par leur origine naturelle remplissent logiquement cette fonction et les implants médicaux en matériau inerte comme les céramiques sont de plus en plus remplacées par des polymères d'origine naturelle.

En plus de la biocompatibilité, on recherche également pour des applications médicales spécifiques des matériaux biorésorbables pouvant se décomposer tout naturellement dans l'organisme humain pour être remplacés par un tissu vivant. Les biopolymères sont dégradés

naturellement dans l'organisme humain par hydrolyse enzymatique et libèrent des molécules assimilables et non toxiques (Nina.,2008).

d) Propriétés chimiques

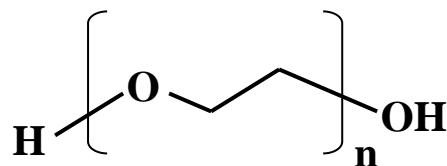
La présence de fonctions chimiques sur les molécules leur attribue des propriétés particulières et des facilités à réagir avec d'autres molécules. Leur réactivité est due à la présence des fonctions alcool, acide, amine, ou aldéhyde qui réagissent facilement grâce à leurs sites nucléophiles et électrophiles (Holy et al.,2006).

Par exemple, la présence de certaines insaturations et des groupements hydroxyles sur les chaînes alkyles des triglycérides permet leur fonctionnalisation et conduit à la formation de polyuréthanes, polyamides ou polyesters.

I.2. Les polymères synthétiques

I.2.1 Polyéthylène glycol (PEG)

Le polyéthylène glycol, de formule chimique $H-(CH_2-CH_2-O)_n-OH$, est un polymère linéaire appartenant à la famille des polyéthers non ionique, de masse moléculaire $< 20\ 000$ g/mol synthétisés à partir de monomère d'oxyde d'éthylène (Robertfroid.,2001).



Le polyéthylène glycol est un thermoplastique cristallin dont la chaîne polymérique est inerte d'un point de vue chimique, alors, que les groupements hydroxyles terminaux peuvent être exploités pour la synthèse de copolymères (Krotshwitz et al.,2004)

Le polyéthylène glycol est largement utilisé comme agent épaississant dans les produits cosmétiques et pharmaceutiques. Dans les matériaux de construction, ce polymère est habituellement appliqué comme agent de rétention d'eau ou agent de viscosité. On les appelle également Macrogol dans le domaine médical (Tanford .,1961)

Solubilité: le PEG est soluble dans l'eau, le toluène, le dichlorométhane, l'alcool et l'acétone mais n'est pas soluble dans les hydrocarbures aliphatiques comme l'hexane, le cyclohexane ou le diéthyléther. Le PEG peut être considéré comme un cosolvant de l'eau qui fait baisser la polarité de la solution pour permettre une meilleure solubilité des produits organiques (Huh et Bae., 1999). La faible solubilité des réactifs organiques et de leurs intermédiaires dans l'eau est le principal obstacle au développement de la chimie en milieu aqueux. En outre, le PEG est à la fois hydrosoluble et liposoluble.

Toxicité: le PEG est également très puissant pour prévenir les cancers colorectaux induits chimiquement chez le rat (Parnaud.,1999), mais les études sur les animaux doivent être extrapolées à l'Homme (Corpet & Pierre,2003). Or le PEG n'a pas de toxicité connue chez l'Homme : il est sur la liste des agents *Generally Recognized As Safe*, il est autorisé comme additif alimentaire en France et aux Etats-Unis, il est consommé quotidiennement à doses laxatives par des milliers de patients constipés en France, aux Etats-Unis et au Canada.

I.2.2 Glycérol

Le glycérol, de formule chimique $\text{CH}_2\text{OH}-\text{CHOH}-\text{CH}_2\text{OH}$, est un liquide sans couleur, sans odeur, translucide et visqueux. Il est utilisé dans de nombreux domaines : industriels, professionnels, consommation courante et sert d'intermédiaire dans la fabrication du savon. Le glycérol est utilisé dans de nombreux cosmétiques comme solvant, hydratant, ou lubrifiant. C'est également un additif alimentaire (E422) et un émulsifiant; on le retrouve dans les peintures, les résines, les papiers mais aussi dans l'industrie pharmaceutique puisqu'il est largement utilisé dans la fabrication de suppositoires ou de sirops (Parnaud .,1999).

Solubilité: le glycérol est un polymère entièrement soluble dans les solvants polaires grâce à ses trois groupes hydroxyles. Il est miscible dans l'eau et bien sûr l'éthanol, il est faiblement soluble dans les autres solvants organiques tels que l'éther ou le dioxane, et insoluble dans le benzène, le chloroforme et le tétrachlorométhane (Perrain .,1999)

Toxicité: en ce qui concerne la santé humaine, le glycérol est depuis longtemps reconnu comme un produit très faiblement toxique, que ce soit après ingestion à condition de ne pas en prendre à forte dose, inhalation ou contact avec la peau.

I.3. LA CHITINE ET LE CHITOSANE

I.3.1 Historique

En 1811, le Pr. Henri Braconnot, Directeur du jardin biologique à Nancy (France) a isolé une substance fibreuse d'un certain type de champignons. De plus, il a observé que cette substance n'est pas soluble dans les solutions aqueuses d'acides. Une décennie plus tard, en 1823, la même substance a été trouvée dans certains insectes (coléoptère) et a été ensuite nommée chitine (provient du mot grec "kitos" qui signifie l'enveloppe). En 1859, le Pr. C. Rouget a soumis la chitine à un traitement alcalin et a observé les différentes solubilités de la chitine. La substance, résultat du traitement alcalin, a pu être dissoute dans les acides. Cependant, seulement en 1894 cette substance a été nommée chitosane par Hoppe-Seyler. (Jaouen, 1994). Entre 1930 et 1940, ces biopolymères ont suscité beaucoup d'intérêt dans le monde oriental, principalement pour l'application dans le domaine médical et la purification de l'eau (Kumar et al., 2000). Aujourd'hui, nous savons que la chitine et le chitosane se trouvent abondamment dans la nature et sont de bonnes ressources renouvelables (Muzzarelli, 1977).

Sources de chitine	Teneur en chitine (%)
Crabe marbré (<i>Grapsus marmoratus</i>)	10
Crabe rouge (<i>Portunus puber</i>)	10
Crabe araignée (<i>Maia squinado</i>)	16
Homard (<i>Homarus vulgaris</i>)	17
Homard sauterelle (<i>Scyllarus arctus</i>)	25
Langouste (<i>Palinurus vulgaris</i>)	32
Ecrevisse (<i>Astacus fluviatilis</i>)	36
Crevette (<i>Palaemon fabricius</i>)	22
Seiche (<i>sepia officinalis</i>)	20
Calamar (<i>Loligo vulgaris</i>)	40

Tableau I.2 : Sources potentielles de chitine

I.3.2 Structure de la chitine et du chitosane

Le chitosane est obtenu par N-désacétylation partielle de la molécule de chitine. Leur structure chimique, représentée sur la Figure I.5, résulte de l'enchaînement d'unités de répétition N-acétyl-D-glucosamine et D-glucosamine liées en β , (1 \rightarrow 4) (Suyatma et al., 2006).

La chitine et le chitosane se différencient par la proportion des unités acétylées présentes dans le copolymère, appelée aussi le degré d'acétylation (noté DA). Bien que le terme "chitosane" soit habituellement limité à toute chitine suffisamment N désacétylée pour être soluble en milieu acide dilué, il n'existe pas de nomenclature officielle proposant la limite précise entre les deux termes. En conséquence, nous appellerons chitosane tout échantillon avec des degrés d'acétylation résiduels (DA) \leq 30% (Kumar et al., 2000).

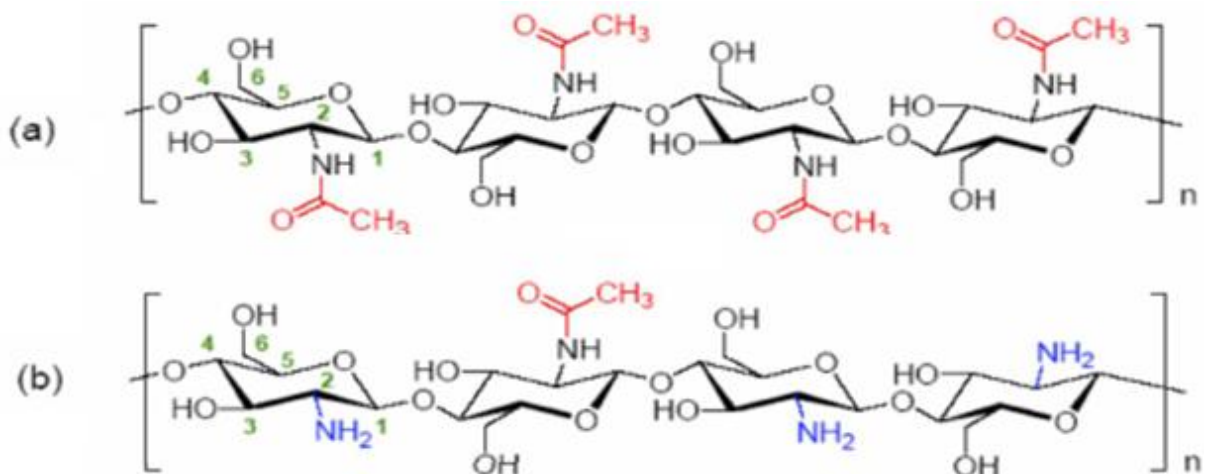


Figure I.5 : Structures chimiques de la chitine (a) et du chitosane (b)

Le chitosane comporte trois types de groupements fonctionnels, un groupement amine et deux groupements hydroxyles en positions C2, C3 et C6 respectivement. Grâce à ses groupements amines libres, ce composé possède des propriétés très intéressantes. Le chitosane, soluble dans les acides faibles, possède une charge positive alors que la plupart des polysaccharides sont chargés négativement (Shahidi et al., 1999).

Le degré de désacétylation (DD) représente la proportion d'unités amine-D-glucosamine par rapport au nombre total d'unités glycosidiques. Dans le cas du chitosane, le DD est supérieur à 60% pour les produits commerciaux. Cette valeur détermine également la limite

de solubilité de ce polymère dans les solutions acides diluées ($2 < \text{pH} < 6$). Le DD est un paramètre structural qui influence les propriétés physico-chimiques telles que la solubilité, la charge globale et la réactivité, les propriétés mécaniques comme l'élongation à la rupture, la résistance à la traction et les propriétés barrière. Il influence également les propriétés biologiques comme la biocompatibilité, la biodégradabilité et l'activité biostimulante et anticholestémiant (Uzun et al., 2006).

I.3.3 Extraction de la chitine

De nombreuses méthodes ont été développées afin de préparer la chitine à partir des carapaces de crustacés. De manière générale, elles consistent à éliminer (No et Mayers, 1995):

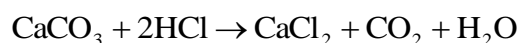
- les éléments minéraux (la déminéralisation),
- les protéines (déprotéinisation),
- la couleur (blanchiment).

I.3.3.1 La déminéralisation

La déminéralisation est généralement réalisée par un traitement acide à température ambiante et sous agitation pour solubiliser le carbonate de calcium et le chlorure de calcium. Les acides les plus fréquemment utilisés sont l'acide chlorhydrique et l'acide formique à des concentrations de 1 à 10 M. La durée du traitement varie de 1 à 48 heures (No et Mayers, 2003).

Le traitement de carapaces de crevettes en poudre avec HCl 1M pendant 30 minutes à température ambiante et un rapport solide/solvant 1:15 (w/v), c'est-à-dire 1 g de carapace pour 15 mL de solvant a permis à No et al. (1989) d'atteindre un taux de déminéralisation presque de 100%.

Pendant le processus de déminéralisation, des mousses indésirables peuvent se former dues à la production de dioxyde de carbone.



No et al. (1998) ont recommandé d'utiliser une antimousse commerciale contenant 10% de solution de silicone active.

I.3.3.2 La déprotéinisation

A l'état naturel, la chitine est liée aux protéines par des liaisons covalentes à travers les résidus : acide aspartique et histidine pour former des complexes très stables tels que les glycoprotéines.

Les protéines sont éliminées par un traitement basique en utilisant, en général, des solutions basiques telles que NaOH, Na₂CO₃, NaHCO₃, KOH, K₂CO₃, Ca(OH), Na₂SO₃, CaSO₃, ou Na₃PO₄, de concentrations allant de 0,1 à 5 mol.L⁻¹. La solution d'hydroxyde de sodium (~10 % massique) est la plus utilisée pour dissoudre les protéines à haute température (65-100°C) pendant une durée allant de 0,5 à 72 heures (No et al., 1989).

No et Meyers (1995) ont rapporté que la proportion du solide à la solution alcaline allant de 1:10 à 1:20 (w/v) est recommandée pour que l'élimination des protéines soit efficace.

I.3.3.3 Le blanchiment

Pour les applications industrielles, la chitine obtenue à partir des ressources crustacées doit être décolorée après les traitements acide et alcalin (No et al., 1989). Le pigment dans les carapaces de crustacées forme un complexe avec la chitine.

Le blanchiment est souvent réalisé par un traitement avec des agents oxydants (KMnO₄, NaOCl, SO₂, NaHSO₃, Na₂S₂O₄ ou H₂O₂). Ce traitement peut éliminer des traces de pigments résiduels, comme les caroténoïdes.

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.

No et al. (1989) ont obtenu une chitine quasiment blanche par extraction à l'acétone et un séchage pendant 2 heures à température ambiante, suivi par le blanchiment en utilisant une solution 0,315% d'hypochlorite de sodium pendant 5 minutes avec un rapport du solide au solvant (1:10, w/v) .

Sans l'extraction préalable par l'acétone, le blanchiment doit être effectué plus de 1 heure pour aboutir à un produit blanc acceptable commercialement.

I.3.4 Production de chitosane à partir de la chitine: la désacétylation

Au vue de sa rareté dans la nature, la chitine est devenue la source principale du chitosane. Ainsi, la majorité des chitosanes commercialisés proviennent de la désacétylation alcaline de la chitine à chaud (Brugherotto et al .2001).

Si l'extraction de la chitine est aujourd'hui facilement réalisable, l'étape la plus délicate reste la désacétylation qui nécessite de substituer suffisamment les groupements acétyle pour aboutir au chitosane, ce qui peut entraîner une réduction excessive de la chaîne polymérique. La désacétylation est généralement effectuée par un traitement alcalin avec la soude ou la potasse concentrée (40-50 %) à une température ≥ 100 °C, pendant au moins 30 minutes pour éliminer le maximum de groupements acétyle ($-\text{COCH}_3$) de la chitine (No et Meyers, 1995).

La désacétylation, qui ne peut pas être réalisée avec un réactif acide (Muzzarelli, 1977), est affecté par un grand nombre de facteurs à savoir : la température, la durée, la concentration d'alcalin, les traitements préalables pour l'obtention de la chitine, l'atmosphère (air ou azote), la quantité de chitine par rapport à la solution alcaline, densité de la chitine et la taille des particules. Compte tenu de tous ces paramètres, Il est donc possible d'obtenir différents chitosanes à partir d'une même chitine (Keliang et al., 1997).

L'objectif idéal est de préparer un chitosane non dégradé et parfaitement soluble dans les milieux acides dilués.

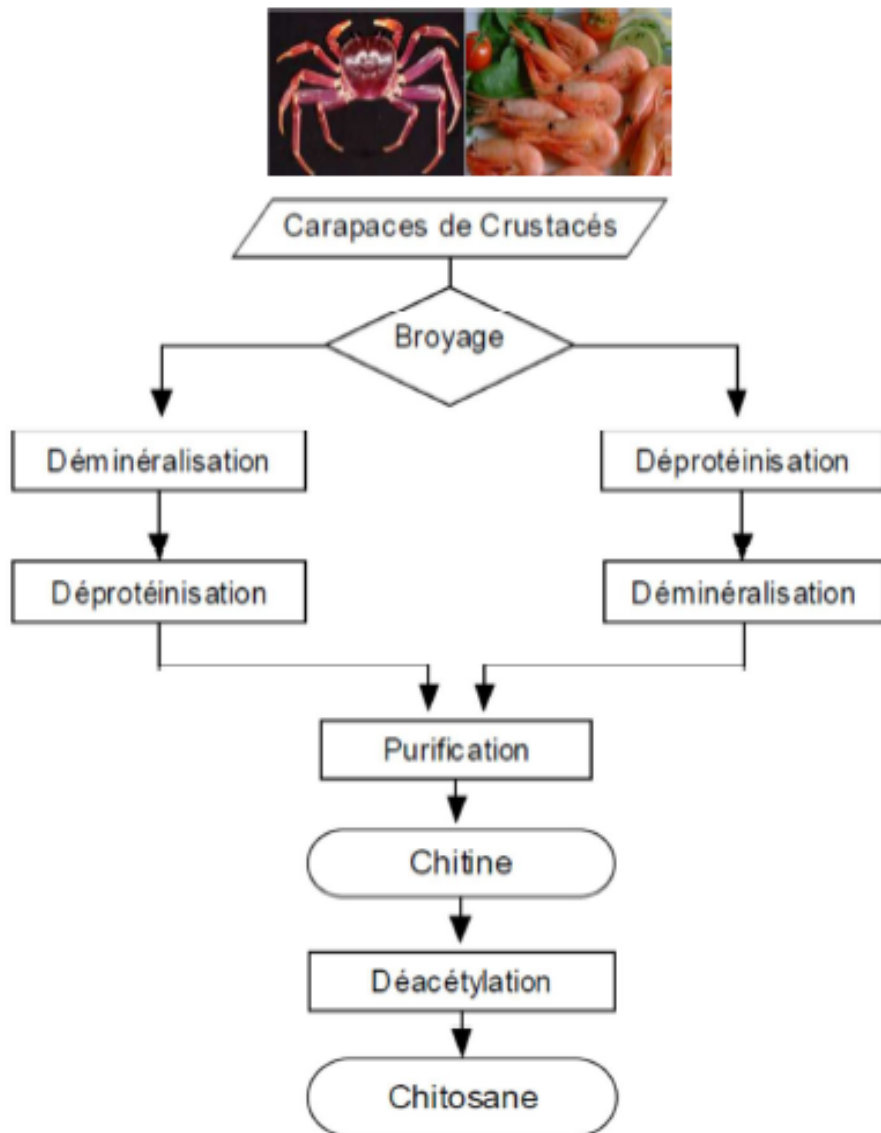


Figure I.6 : Procédé d'extraction de la chitine et du chitosane (Brughero et al., 2001)

I.3.5 Propriétés physico-chimiques de la chitine et du chitosane

La chitine et le chitosane sont principalement caractérisés par leur degré d'acétylation (DA) et par leur masse molaire, dont la détermination nécessite la mise en solution du polymère.

I.3.5.1 Le degré d'acétylation (DA)

Le terme chitosane n'est pas attribué uniquement pour définir un composé, mais plutôt pour désigner toute une famille de copolymères ayant des fractions d'unités acétylées variables qui se distingueront entre eux par le degré d'acétylation (DA) : pourcentage des groupes acétyle (-COCH₃) dans la chaîne polymérique (Roberts, 1992).

De nombreuses méthodes ont été proposées afin de déterminer le DA :

- sur des échantillons solides : la spectroscopie IR (Brugnerotto, 2001), l'analyse élémentaire (Kasaai *et al.*, 1999), la RMN solide (Heux *et al.*, 2000),
- sur des échantillons en solution : dosage UV (Maghami et Roberts, 1988), titrage colloïdal (Chen *et al.*, 1997), RMN liquide (Yang et Montgomery, 2000).

I.3.5.2 La solubilité

Du fait de sa forte cristallinité, la chitine n'est soluble que dans des solvants peu communs, ce qui limite son utilisation et sa valorisation. En effet, elle n'est soluble que dans le 2-hexafluoropropanol, et dans des mélanges tels que le diméthylacétamide /chlorure de lithium, ou l'acide trichloroacétique / dichloroéthane (Margurite *et al.*,1993).

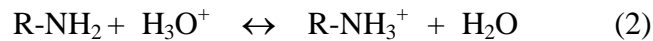
Le chitosane, insoluble dans l'eau, les acides concentrés, les bases et les solvants organiques (Montserrat, 2002) ; peu se solubiliser dans les solutions acides dilués tels que l'acide chlorhydrique, l'acide formique, l'acide acétique, l'acide oxalique et l'acide lactique à pH < 6,5. L'acide phosphorique, l'acide sulfurique, l'acide citrique et l'acide sébacique ne sont pas de bons solvants pour le chitosane (Kurita *et al.*,2001).

Lorsque le pH est faible, les amines subissent une protonation et deviennent chargés positivement, le chitosane devient alors un polyélectrolyte cationique hydrosoluble. Il est d'ailleurs le seul polycation d'origine naturelle (Brugheroto *et al.*,2001).

D'autre part, le chitosane devient insoluble à des pH élevés. Cette transition entre l'état soluble et l'état insoluble du chitosane a lieu pour des valeurs de pH comprises entre 6 et 6,5.

La solubilité du chitosane dépendant aussi du degré de désacétylation (DD) (Yi *et al.*,2005) , de la nature de l'acide utilisé, de la force ionique et de la distribution des groupes amines sur la chaîne macromoléculaire (Crini, *et al.*,2009).

Le solvant le plus couramment utilisé pour la dissolution du chitosane est l'acide acétique dont les équations d'équilibre sont les suivantes:



L'intérêt porté à la solubilité du chitosane est justifié par la nécessité de dissoudre la substance afin de faciliter d'éventuelles transformations chimiques. Les réactions chimiques réalisées en phase homogène conduisent généralement à de meilleurs rendements réactionnels, et ce, en moins de temps que lorsque ces mêmes réactions sont effectuées dans des conditions hétérogènes (Bhattari et al.,2005). Le chitosane est une substance présentant une très faible solubilité dans des milieux organiques et plus particulièrement lorsque cette dissolution est tentée dans des solvants aprotiques ou non polaires (Chiu et al.,2009).

Cette quasi insolubilité s'explique par trois principales raisons (Cho, Jang et al.,2000) :

- la grande masse moléculaire de chacune des chaînes polymériques,
- la formation de liaisons hydrogènes entre les différents groupes fonctionnels portés par chacune des unités,
- les repliements des chaînes.

I.3.5.3 Le poids moléculaire

Dans le cas de la chitine et de son principal dérivé ; le chitosane, la connaissance de ce paramètre est très importante pour leurs utilisations industrielles et leurs applications dans les différents domaines de recherche (Montserrat, 2002). En effet, la conductivité, la densité, la tension de surface et la viscosité des solutions de chitosane sont significativement affectées par le poids moléculaire (Bhattari et al., 2005).

Pour la chitine, le poids moléculaire dépasse largement un million Daltons, tandis que pour le chitosane, il varie entre 10^5 et $1,2 \cdot 10^6$ Daltons (Li et al., 1992).

La valeur de ce paramètre est affectée par l'origine des deux polysaccharides et la méthode de leur préparation:

* Crevette rouge (*Solenocera prominentis*) : $1,58 \cdot 10^4 - 5,12 \cdot 10^5$ Daltons (Chen et al., 1994)

* Crabe (*Chionoectes rouge opilio*) : $15,0 \cdot 10^4 - 6,00 \cdot 10^5$ Daltons (Hwang et al., 2000)

Plusieurs méthodes ont été élaborées pour déterminer le poids moléculaire de la chitine et du chitosane telles que la viscosimétrie (Okamoto et al., 2002), la chromatographie liquide (Chen et al., 1997)... etc.

La viscosimétrie est une technique très simple, facile à réaliser et se base sur l'équation de Mark-Houwink [37]:

$$[\eta] = k [Mv]^a$$

[η] : viscosité intrinsèque

Mv : poids moléculaire moyen viscosimétrique.

k et a: paramètres caractéristiques du système polymère-solvant, à température donnée, leurs valeurs dépendent du type de solvant utilisé et de la nature du polymère considéré.

I.3.6 La plastification du chitosane

La plastification est une technique généralement utilisée pour améliorer la flexibilité, la plasticité, l'élongation à la rupture ou la durabilité des polymères ... (Daniel, 1989).

Il existe trois théories pour expliquer les mécanismes de la plastification : la théorie de la lubrification, la théorie des gels et la théorie du volume libre (Mekonnen, et al., 2013; Sears & Darby, 1982).

•**Théorie de la lubrification**: le plastifiant agit comme un lubrifiant afin de réduire la friction et de favoriser la mobilité des chaînes. Pour cela, le plastifiant va s'insérer entre deux chaînes de polymère et va réduire les forces de liaisons entre les chaînes.

Lorsque le polymère se déforme, les macromolécules se meuvent les unes sur les autres, et le plastifiant va lubrifier ces surfaces de glissement. Pour simplifier, il est présumé qu'il n'y a pas de liaison entre les macromolécules au-delà des irrégularités de surface.

Il est aussi supposé que les liaisons entre les molécules du plastifiant lui-même et/ou entre les molécules du plastifiant et du polymère soient faibles comme la faible énergie interrassiale qu'il y a entre un solide et un lubrifiant liquide (Suyatma et al.,2006).

•**Théorie des gels**: considère qu'une structure tridimensionnelle est à l'origine de la rigidité du polymère. La rupture de liaisons à différents intervalles dans les chaînes polymériques conduit à l'obtention d'un gel. C'est le plastifiant qui va briser certains ponts entre les chaînes et masquer le centre des forces attractives (liaisons hydrogènes, Van der Waals ou forces ioniques), qui avaient jusque-là maintenu les chaînes du polymère ensemble. Cela va réduire la rigidité de la structure gel et donc la flexibilité du polymère.

Parallèlement, des molécules du plastifiant non liées au polymère vont aider à gonfler ce dernier et faciliter le mouvement de ses molécules, augmentant la flexibilité.

Pour des polymères semi-cristallins, le plastifiant va d'abord affecter la phase amorphe et les régions cristallines imparfaites. Si son pouvoir de solubilisation est assez important, il peut aussi causer la dissolution de certains cristaux, mais si une structure gel demeure, il ne pourra pas dissoudre définitivement tous les cristaux (Sauyatma et al.,2006).

- **Théorie du volume libre:** on définit le volume libre comme étant la différence entre le volume d'un cristal (d'un liquide, d'un solide ou d'un gaz) à la température zéro absolu (0 K) et le volume d'un cristal à la température d'utilisation. Le volume libre ou trous d'un polymère vont permettre les mouvements limités des éléments de la structure maillée. Plus le volume libre sera important, plus les mouvements des chaînes seront faciles (Suyatma et al.,2006).

Dans le cas du chitosane, la plastification de ce polymère n'est pas encore largement étudiée comme celles de l'amidon ou des protéines. En effet, certains auteurs ont démontré l'efficacité de quelques plastifiants pour les films de chitosane :

-Des plastifiants hydrophiles : polyéthylèneglycol(PEG) (Alexeev et al ,2000 ; Zhang et al ,2002 ;Kolhz et Kannan ,2003 ;Caner et al ,1998) , glycerol (Butler et al , 1996)

- Des sucres: sorbitol et sucrose (Arvanitoyannis et al , 1997)

Butler et al (1996) ont rapporté que l'élasticité des films de chitosane plastifié avec le glycérol diminue après 12 semaines de stockage, alors que Caner et al (1998) ont trouvé que les films de chitosane plastifié avec le PEG sont stables jusqu'à 9 semaines .De ce fait, il est nécessaire de déterminer les taux de plastification et la stabilité pendant l'utilisation ou le stockage afin de connaître l'efficacité d'un plastifiant.

I.3.7 Applications de la chitine et du chitosane

Les propriétés particulières du chitosane sont liées essentiellement à la présence de la fonction amine portée par le carbone 2. Elles sont de deux types :

- à pH acide, où il est soluble, le chitosane porte de nombreuses charges positives. Il est donc un bon agent de floculation et un bon agent de coagulation. Il peut interagir avec des molécules chargées négativement (par exemple acides gras, protéines ...) (Fang et al., 2001) et former ainsi des complexes polyanionpolycation. Cette propriété lui ouvre de multiples

applications notamment en dermo-cosmétologie : elle permet d'interagir de façon très intime avec les kératines de la peau et ainsi former un film à la surface de celle-ci (Chiu et al., 2009).

- à pH (> 6,5), le chitosane perd ses charges positives, le doublet électronique de l'azote est libre. Ces doublets libres et la présence de nombreux atomes d'oxygène dans le chitosane lui permettent de se comporter comme un excellent complexant, en particulier des métaux lourds. Il est donc utilisé pour la purification des eaux, par exemple pour la récupération de métaux dans les effluents industriels (Chiu et al., 2009).

Le chitosane et la chitine, en faible quantité (quelques mg par m³ d'eau) sont capables de déclencher chez les plantes les mécanismes de défense contre les infections et les agressions parasitaires. Par ailleurs, le chitosane stimulerait la plante pour la synthèse d'agents protecteurs, et se comporterait comme un engrais en accélérant la germination et la croissance des plantes (Sandford, 1989).

Dans le domaine des cosmétiques, les propriétés filmogènes et cationiques du chitosane sont exploitées dans de nombreuses crèmes ou lotions de soin pour les cheveux ou la peau (Lang et Clausen, 1989). On le trouve par exemple dans des crèmes antifongiques, amincissantes, hydratantes...

II. ULTRAFILTRATION

II.1. Définition

L'ultrafiltration est un procédé membranaire permettant la séparation de macromolécules en phase liquide par **perméation** à travers une membrane semi-perméable sous l'action d'un gradient de pression. Le solvant, appelé filtrat ou **perméat**, traverse la barrière que constitue la membrane. Les substances retenues, appelées **rétenant**, sont capturées et concentrées sur la surface de la membrane, et peuvent être éliminées du module en continu ou de manière périodique. En ultrafiltration, le rétenant circule tangentiellement à la membrane.

En terme de pouvoir de séparation, l'ultrafiltration couvre une zone très large (allant de 1 nm à 100 nm) ; en deçà ou au-delà de ces limites, on entre soit dans le domaine de l'osmose inverse, soit dans celui de la microfiltration.

Un système d'UF est composé d'une cuve d'alimentation, d'une pompe permettant la circulation du fluide dans le système, d'une membrane de filtration de seuil de coupure

spécifique, de différents manomètres placés de part et d'autre de la membrane ainsi qu'au niveau de la sortie du perméat. De ce fait, au fur et à mesure que le fluide à traiter passe à travers la membrane, les constituants retenus par la membrane seront concentrés dans le rétentat alors que ceux de tailles inférieures au diamètre des pores membranaires seront récupérés dans le perméat. La séparation membranaire par UF implique cependant l'utilisation de configurations membranaires spécifiques ainsi que l'application de paramètres précis (Aimar et al., 1989) qui seront développés dans les prochaines sections.

Il existe deux modes de filtration distincts : la filtration tangentielle et la filtration frontale (Figure II.1).

La filtration frontale également appelée « *dead-end filtration* » elle consiste à filtrer le flux de liquide à traiter de manière perpendiculaire à la surface membranaire. Ceci favorise un colmatage membranaire rapide et nécessite des cycles de nettoyage fréquents.

Dans le cas de la **filtration tangentielle** ou « *cross-flow filtration* », le flux est filtré de manière parallèle à la membrane permettant ainsi de limiter le dépôt des particules et de minimiser le phénomène de colmatage. Ce type de filtration, étant le plus couramment utilisé en industrie afin d'améliorer la productivité de l'étape de filtration, a été appliqué dans le cadre de ce projet de recherche.

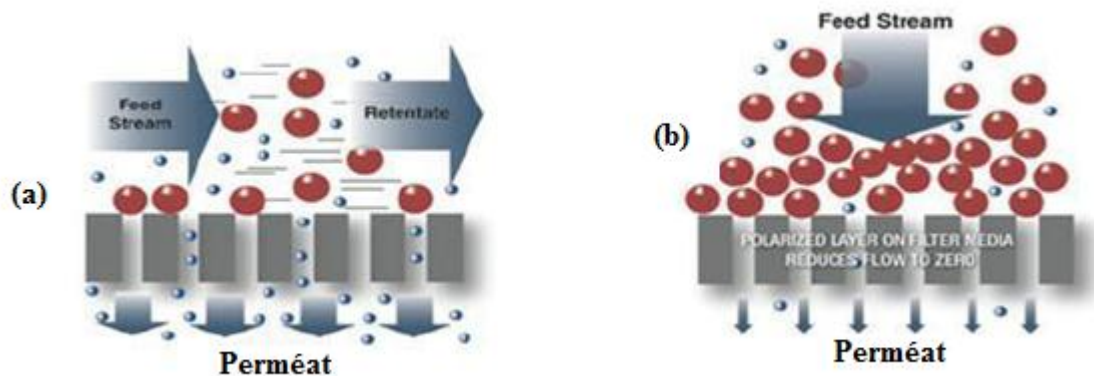


Figure II.1 : Filtration en mode tangentielle (a) et en mode frontale (b)

II.2 Les membranes d'ultrafiltration

Une membrane est une interface physique, de faible épaisseur, qui contrôle le transfert d'espèces chimiques entre les deux milieux qu'elle sépare (Audinos et Isord, 1986). Il existe une grande diversité de membrane. Elles sont classées par familles, selon leur nature chimique, leur structure et leur forme liée à leur mode de fabrication. De part leur nature, les membranes sont fabriquées à partir de différents matériaux, de type organique ou minéral:

- **Les membranes organiques** : elles sont fabriquées, pour la plupart d'entre elles, à partir de polymères organiques (acétate de cellulose, polysulfones, polyamides, etc). Les qualités de ces matériaux leur confèrent une grande adaptabilité aux différentes applications. Environ 90 % des membranes d'ultrafiltration et de microfiltration sont constituées de membranes organiques (Berland et Juery,.2002).

- **Les membranes minérales** : elles sont composées de corps entièrement minéraux (matières céramiques, métal fritté, verre). Leur arrivée a permis de travailler dans des conditions extrêmes de température et d'agression chimique, ce qui a ouvert de nouvelles voies dans la séparation par membrane (Berland et Juery,. 2002).

II.2.1 Matériaux et configurations membranaires

Diverses configurations et matériaux membranaires peuvent être utilisés tout dépendamment du type de produit à traiter et les habitudes de transformation industrielles. En termes de configuration membranaire, des membranes planes, spiralées, tubulaires et à fibres creuses peuvent être directement installées sur le système de filtration (Pouliot ., 2008) (Figure II.2).

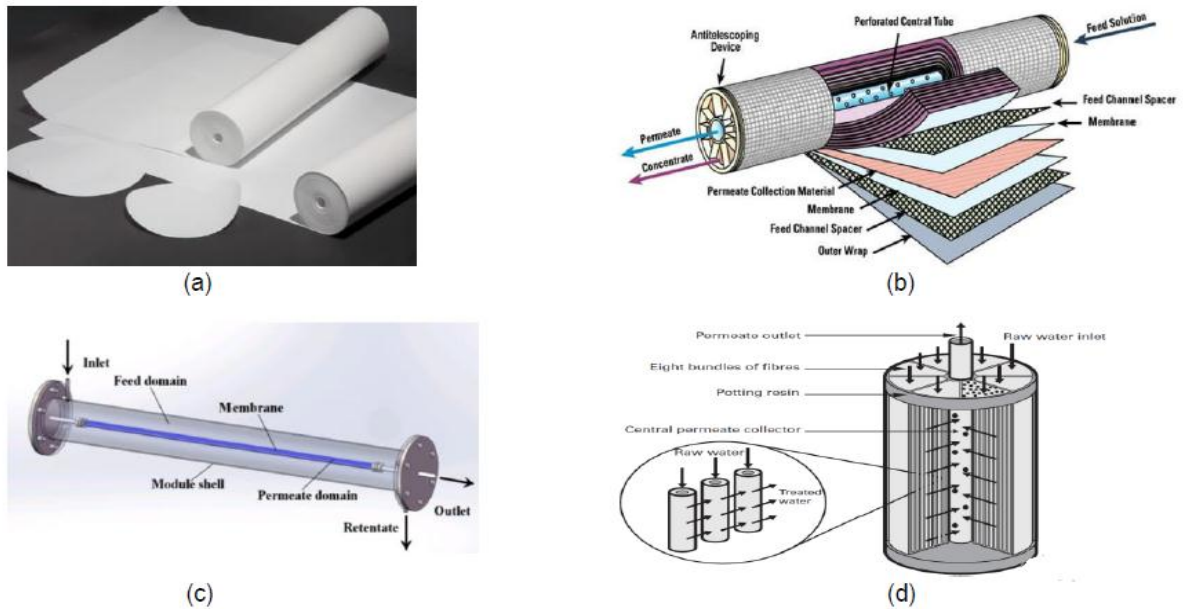


Figure II.2: Les différents types de membranes (a) plane, (b) spiralee, (c) tubulaire et (d) membrane à fibres creuses. (Tuoi ., 2009)

II.2.2 Caractéristiques des membranes

Les membranes sont généralement caractérisées par leur taille des pores, leur seuil de coupure relatif à une masse moléculaire critique, leur sélectivité ainsi que leur perméabilité à l'eau pure dans des conditions standards (Mourato et Singh.,2001).

II.2.2 .a)- Sélectivité d'une membrane

La sélectivité est une caractéristique difficile à quantifier et pourtant essentielle. C'est une caractéristique de surface de la membrane, qui détermine quels composés de la solution la traversent. Elle s'exprime par un taux de rétention R :

$$R = 1 - \frac{C_P}{C_0} \quad (1)$$

Où C_0 est la concentration de l'espèce à retenir dans la solution

C_P est la concentration de la même espèce dans le perméat.

II.2.2 .a)- Perméabilité d'une membrane

La perméabilité (L_p) est un paramètre qui caractérise l'aisance avec laquelle l'eau traverse la membrane. La perméabilité dépend principalement de la taille des pores. De façon pratique, la perméabilité peut être définie comme étant le rapport entre le flux de perméat (J_v) et la pression transmembranaire (ΔP):

$$L_p = \frac{J_v}{\Delta P} \quad (2)$$

Avec $\Delta P = \frac{P_1 + P_2}{2}$ (bar), où P_1 est la pression d'entrée et P_2 la pression de sortie.

En pratique, la perméabilité d'une membrane est déterminée comme la pente de la droite $J_v = f(\Delta P)$.

II.2.2 .c)- Résistance d'une membrane

La résistance hydraulique (R_m) d'une membrane est définie comme étant sa résistance à l'écoulement du fluide à travers cette membrane (Allgeier ., 2001). La résistance d'une membrane est l'inverse de sa perméabilité:

$$R_m = \frac{1}{L_p} \quad (3)$$

II.2.2 .d)- Seuil de coupure

Le seuil de coupure (cut off en anglais) est défini comme étant la masse molaire du plus petit composé modèle retenu à 90% par la membrane (Pontié et al., 2001). Celui-ci se mesure en g/mole ou en Dalton. Le seuil de coupure est une façon pratique de caractériser les membranes, mais pas tout à fait rigoureuse d'un point de vue scientifique, car il dépend aussi des autres caractéristiques du soluté ainsi que des conditions opératoires. En effet, la forme, la structure et l'élasticité des molécules influencent aussi sur la probabilité de passage à travers les membranes (Aimar et Daufin, 2004):

- **Influence de la forme:** c'est, par exemple, le cas des microorganismes qui ont souvent la forme d'un ellipsoïde de révolution ou de certaines protéines. Selon qu'il est plus ou moins allongé, et en fonction de l'angle sous lequel il aborde la surface de la membrane ; un

ellipsoïde peut pénétrer ou non dans l'orifice des pores qu'il rencontre tout le long de sa trajectoire.

- **Influence de l'élasticité**: les particules rigides sont plus faciles à retenir que celles qui sont déformables. Ces dernières peuvent parfois passer au travers de la membrane, même si, d'un point de vue géométrique, elles ne devraient pas la franchir.

- **Influence de la structure** : c'est, par exemple, le cas des protéines qui ont des structures qui dépendent des conditions du pH, de force ionique, de concentration, etc.

C'est pour toutes ces raisons qu'il existe de grandes différences entre le seuil de coupure rapporté par les compagnies manufacturières de membranes et ceux observés dans la pratique (Anselme et Jacobs, 1996).

II.3. Elaboration des membranes à base de biopolymères

Il existe plusieurs procédés d'élaboration de membranes à base de biopolymères. Les deux principaux sont les procédés dits par voie humide et par voie sèche. La formation du matériau se déroule généralement en deux étapes : la première consiste à obtenir un état déstructuré et la seconde correspond à la mise en forme.

II.3.1 Voie sèche

Ce procédé de transformation est utilisé lorsque le matériau manifeste un comportement thermoplastique, c'est-à-dire qu'il pourra comme les polymères synthétiques thermoplastiques, être fondu de façon réversible. Certains biopolymères peuvent être considérés comme des matériaux thermoplastiques en présence d'eau. Les procédés de transformation utilisés sont les mêmes que ceux utilisés pour les polymères synthétiques : extrusion, injection, thermoformage, et calandrage (Chandra et Rustgi, 1998).

Les paramètres à prendre en compte sont ceux classiquement considérés dans les différentes techniques de transformation des matières plastiques, à savoir, la viscosité, la température de transition vitreuse, la température de fusion, et la température de dégradation.

II.3.2 Voie humide

La voie humide consiste à solubiliser les macromolécules, souvent en milieu aqueux, puis à évaporer le solvant pour obtenir une membrane solide. En fonction du domaine d'application, il existe différents procédés pour réaliser des membranes par voie humide.

- La méthode de « **solvent casting** » reste une des méthodes les plus utilisées pour former des membranes minces. Elle consiste à étaler sur un support une solution ou un gel de polymère. L'épaisseur de la membrane est déterminée par la concentration en polymère et par l'épaisseur initiale de la solution ou du gel qui est généralement ajustée à l'aide d'une barre d'étalement (Franca et al., 2014). Elle permet de fabriquer de manière simple et peu coûteuse, à l'échelle laboratoire, des membranes dont la mise en œuvre et les propriétés sont assimilables à celles produites par d'autres méthodes de voie humide, tel que le moulage par trempage par exemple.

- La méthode de « **moulage par trempage** » (dipping ou dip-molding) est une méthode très ancienne utilisée pour appliquer un film protecteur sur certains produits alimentaires, et pour la fabrication des gélules pharmaceutiques. Elle l'est également pour la fabrication d'objets en latex et de nombreuses pièces plastiques. L'objet à mouler ou à revêtir va être trempé dans une solution de manière à former une couche gélifiée uniforme sur la surface de l'objet. Une fois l'épaisseur désirée atteinte, l'objet est retiré de la solution puis séché. Le film obtenu pourra alors être démoulé (Podczek et Jones, 2004).

D'autres méthodes peuvent être employées comme le « **spraying** » qui consiste à pulvériser sur une surface une solution de biopolymère sous forme de fines gouttelettes afin d'obtenir une membrane d'une épaisseur très fine (Nisperos-Carriedo, 1994). Pour des applications en tant que matériaux, les principaux polysaccharides sont la cellulose et l'amidon, mais une attention croissante a été portée à d'autres polysaccharides comme les alginates, la pectine, le chitosane, le pullulane et le xanthane.

II.4. Modes de fonctionnement de l'UF

L'ultrafiltration fonctionne en continu, en discontinu, en continu avec recyclage partiel du rétentat ou en diafiltration (Aimar et Daufin, 2004).

II.4.1 Mode en discontinu

En mode discontinu, le rétentat est renvoyé en totalité dans une cuve. Sa concentration augmente au cours du temps au fur et à mesure que le perméat s'écoule au travers de la membrane, et ceci de façon continue jusqu'à l'atteinte de la concentration désirée.

Dans un montage simplifié, une seule pompe assure la circulation du rétentat. Eventuellement, une pompe de recirculation peut être utilisée afin d'accroître la vitesse à la surface de la membrane et donc de réduire les risques de colmatage.

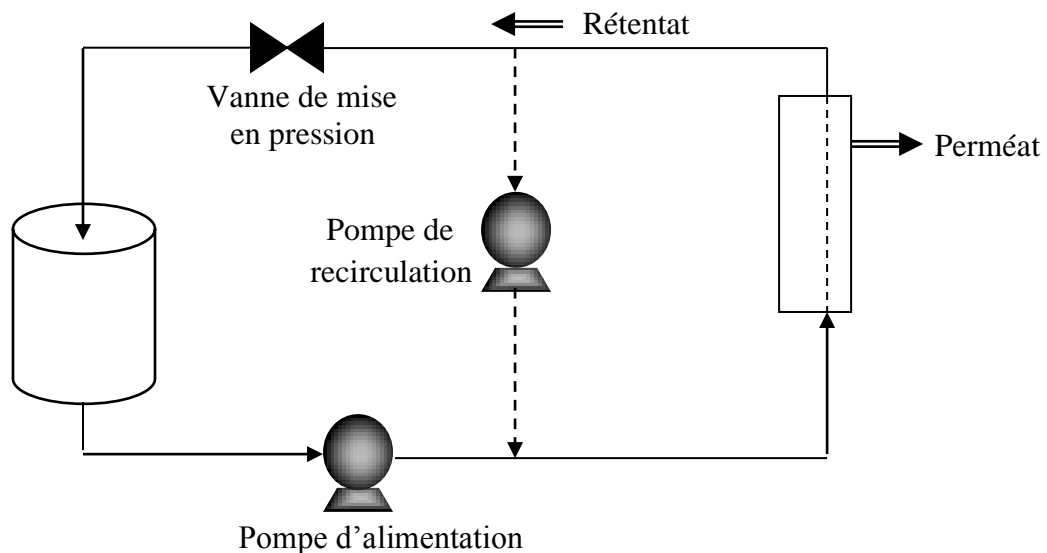


Figure II.3: Séparation membranaire en mode discontinu avec recirculation (en pointillé).

II.4.2 Mode en continu

En mode continu, une partie du rétentat est soutirée en permanence de la boucle de recirculation (Figure II.4). Compte tenu du rapport en général faible (débit de filtrat/débit de circulation), il est indispensable d'installer une pompe de recirculation en plus de la pompe d'alimentation. Un circuit de recirculation est généralement requis pour atteindre la concentration désirée. La concentration circulante est considérée égale à la concentration au soutirage, car on considère que la boucle de recirculation est idéalement mélangée grâce à la vitesse de circulation élevée de la pompe.

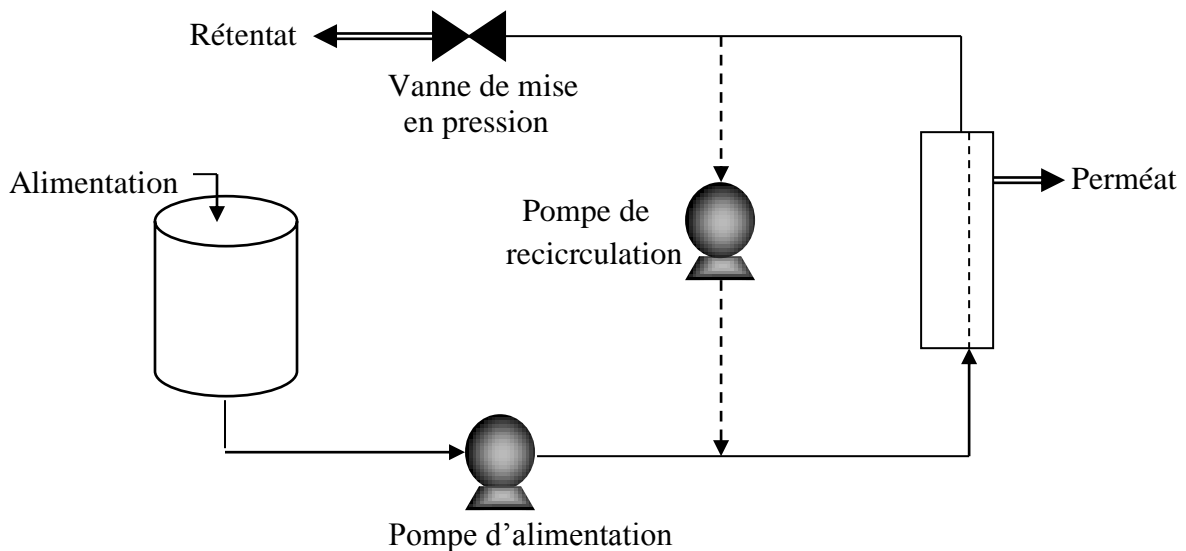


Figure II.4: Séparation membranaire en mode continu avec recirculation

II.5 Les conditions opératoires

Plusieurs paramètres opératoires tels que la pression transmembranaire (PTM) et la vitesse de recirculation tangentielle sont déterminants pour maximiser les performances (flux de perméation, colmatage, etc.) des systèmes de filtration.

a) La pression transmembranaire

La PTM représente la force motrice de la filtration. Elle représente une moyenne de la pression appliquée à l'entrée (P_e) et de la pression appliquée à la sortie (P_s) du module, auquel est soustraite la pression appliquée à la sortie du perméat (P_p).

$$PTM = \frac{P_e + P_s}{2} - P_p \quad (4)$$

P_e est habituellement la pression atmosphérique, donc considérée comme négligeable.

b) La vitesse tangentielle

La vitesse tangentielle, exprimée en ($m \cdot s^{-1}$), correspond au débit du liquide à filtrer divisé par l'aire de la surface filtrante. Généralement, plus la vitesse tangentielle est élevée, plus le colmatage est réduit du fait d'une diminution de la couche de polarisation de concentration. De plus, une forte vitesse tangentielle génère des forces de cisaillement importantes à l'interface de la membrane ce qui permet d'augmenter considérablement le flux de perméation.

c) Le flux de perméation

Le flux de perméation (J_v) est directement relié à la pression transmembranaire appliquée au sein du système. Ce flux représente le débit du fluide à la surface de la membrane, exprimé en mètre carré par unité de surface. Le flux de perméation, exprimé généralement en $\text{kg/m}^2 \cdot \text{h}$, est considéré comme indicateur majeur des performances de la filtration.

Selon la loi de Darcy, le flux de perméation est défini comme suit :

$$J_v = \frac{PTM}{\mu \cdot R} \quad (5)$$

Où $\mu = 0,55 \cdot 10^{-3}$ Pa.s et R représente la résistance hydraulique totale (sans unité).

Partie II :
Partie expérimentale

III. MATERIELS ET METHODES :

Les techniques membranaires, souvent coûteuses, nécessitent des appareils spécifiques importés de l'étranger dont l'entretien n'est pas du tout simple. De plus, l'absence totale de la pièce de rechange complique d'avantage leur utilisation à long terme. En particulier la non disponibilité locale des membranes d'ultrafiltration pour les pays en voie de développement. De ce fait, une nouvelle gamme de membranes, à bas prix et adaptées à des traitements à petite échelle doit être développée. Cela conduirait à une économie de sommes considérables de devises nécessaires à leur importation.

Le chitosane, obtenu par simple traitement chimique (désacétylation) de la chitine, constitue une ressource renouvelable. Le chitosane, doté de propriété filmogène, est un matériau naturel facile à manipuler. Ce sont les groupements amides libres de ce biopolymère qui sont responsables de certaines activités telles que l'absorption et l'adsorption (Desbrières., 2002).

Dans ce chapitre, nous exposons les différentes techniques adoptées ainsi que le matériel utilisé, permettant d'exploiter les propriétés spécifiques du chitosane, dans le processus d'ultrafiltration.

III.1 MATÉRIEL

III.1.1 Matière première

- Carapaces de crevette blanche (*Parapenaeus longirostris*).
- Chitosane commercial : obtenu à partir de la carapace de crabes, produit (SIGMA Aldrich).

III.1.2 Réactifs

Glycérol: réactif chimique commercial, Sigma, Poids moléculaire: 92 g/mole.

Polyéthylène glycol: Matière première à usage pharmaceutique, fabricant: Roquette Pharma, Poids moléculaire: 6000g/mole.

L'hydroxyde de sodium (NaOH): Réactif chimique commercial, Sigma.

Acide chlorhydrique(HCl) 37%.

Acide acétique (CH₃COOH) 99 %, Carlo Erba (Densité à 25 °C 1.049).

III.1.3 Equipement

- Etuve de séchage: Binder.
- Plaque d'agitation magnétique chauffante (Stuart, SB 162).
- Spectromètre infrarouge FTIR (SHIMADZU Infinty¹).
- Semi-micro balance:MettlerToledoTM Modèle : X105D.Ranger, précision 0.01mg.
- Analyser de traction: 8ZWEICK/ROELL piloté par un logiciel TESTXTRET.
- Micromètre: Fowler Instrument, IP 54, China. Avec une précision de 0,1 µm.
- Viscosimètre(BROOKFIELD LV Spinle SET MIDDLE BORO 02348 USA).
- Appareil d'ultrafiltration: GAMMA Filtration MICROLAB 130S.

III.2 MÉTHODES EXPÉRIMENTALES

III.2.1 Production de la chitine et du chitosane

III.2.1.1 Matière première

Les carapaces de crevettes, utilisées durant cette étude, appartiennent à l'espèce *Parapenaeus longirostris*, identifiée au niveau du Laboratoire Halieutique, Faculté des Sciences Biologiques, U.S.T.H.B. Cette espèce, appelée communément crevette blanche, est présente en abondance à différentes profondeurs de 1500 à 900 m, le long du littoral algérien (Nouar et Maurin, 2001).

III.2.2 Extraction de la chitine

III.2.2.1 Prétraitement de la carapace

Avant leur utilisation, les carapaces sont d'abord débarrassées de leurs antennes et leurs pattes. Elles subissent ensuite un prétraitement qui consiste en un lavage intense afin d'éliminer les résidus organiques (tissus) et bouillis pendant 1 heure, après ça elles sont lavées une seconde fois et enfin séchés à l'air libre. Après séchage, les carapaces sont débarrassées une dernière fois d'éventuels tissus encore présents et subissent le quenching (Mukherjee, 2001) : ce traitement permet de casser la structure cristalline de la chitine contenue dans la carapace, facilitant ainsi son extraction. Il consiste à placer les carapaces, préparées comme indiqué ci-dessus, dans l'étuve à 80°C, Pendant 48 heures. Elles sont ensuite rapidement plongées dans un bain froid d'acétone, contenant de la glace. Cette étape du traitement a pour but d'empêcher la recristallisation de la chitine et rend par ailleurs les carapaces plus faciles à

broyer. A l'issue de ce traitement, les carapaces sont broyées à l'aide d'un moulin à café, la poudre obtenue est conservée dans des boîtes fermées hermétiquement.

III.2.2.2 La déminéralisation

L'extraction des minéraux, à savoir le carbonate de calcium et le chlorure de calcium, a été réalisée sous les conditions optimales obtenues par (Benhabiles et al., 2012) :

- Température ambiante.
- Concentration de HCl: 1,5N
- Temps de réaction: 2 h au lieu de 1,5 h

Vu que le rapport poids de carapace de crevette par le volume d'acide chlorhydrique était sans effet sur l'étape de déminéralisation, nous avons opté pour un rapport solide/solvant égale à 1/15 (g/mL) dans le souci de maintenir une certaine fluidité durant la réaction. L'agitation étant maintenue constante en utilisant un agitateur magnétique (Stuart, SB 162).

En fin de réaction, le surnageant est éliminé par filtration sur un tamis (Endecotts, 140µm), le culot retenu est rincé abondamment avec l'eau du robinet jusqu'à la neutralité, et ce, en contrôlant le pH de l'eau du rinçage.

La réaction de déminéralisation est appréciée par détermination du taux de cendres, plus le taux de cendres est faible, plus efficace sera la réaction de déminéralisation:

$$\text{Taux de déminéralisation(\%)} = \frac{\text{Taux de cendre initial} - \text{Taux de cendre de l'échantillon} \times 100}{\text{Taux de cendre initial}}$$

III.2.2.3 La déprotéinisation

La déprotéinisation a été accomplie en soumettant les carapaces déminéralisées suivant les conditions optimisées, à un traitement alcalin par la soude.

Dans ce cas, contrairement à la déminéralisation, le rapport poids de carapace déminéralisée par le volume de soude apparaît comme un paramètre ayant une influence considérable (Benhabiles et al.,2012). Ceci nous a conduits à travailler sous les mêmes conditions optimales, à savoir :

- le poids de carapace déminéralisée / volume de soude = 1/ 20 (g/mL)
- la concentration de NaOH : 2N

Vu que l'évolution du taux de déprotéinisation est pratiquement constante au-delà de 45°C, nous avons décidé d'opérer à température ambiante tout en prolongeant la durée de déprotéinisation jusqu'à 6h.

En fin de réaction, le surnageant est récupéré à l'aide d'une seringue et transvasé dans une fiole jaugée de 50 mL, le pH est ramené à la neutralité par une solution d'acide chlorhydrique (1N) dont le volume rajouté est soigneusement noté. Le taux de déprotéinisation est évalué par quantification des protéines dans le surnageant selon la méthode de dosage de Biuret.

En ce qui concerne le culot, il subira le même traitement que l'étape précédente.

$$\text{Taux de déprotéinisation (\%)} = \frac{\text{Taux de protéines de l'échantillon}}{\text{Taux de protéines initial}} \times 100$$

Le taux de protéines initial a été déterminé par la méthode standard de Kjeldahl.

III.2.2.3 La désacétylation

C'est l'étape la plus importante qui consiste à la transformation de la chitine en chitosane en milieu fortement alcalin:

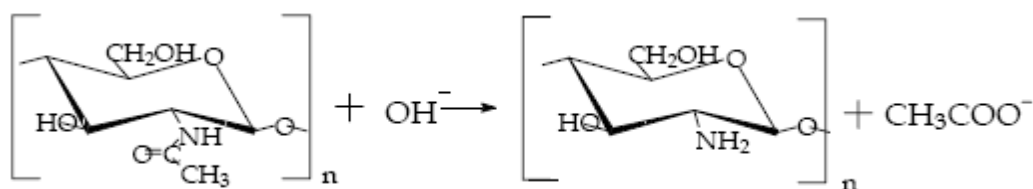


Figure III.1: Transformation de la chitine en chitosane

Déjà cité en bibliographie, la désacétylation est affectée par un grand nombre de facteurs. Dans cette étude, nous avons décidé de préparer un chitosane sous conditions

opératoires très douces pour éviter une dégradation excessive de la chaîne polymérique du chitosane obtenu et par conséquent augmenter la solubilité de ce dernier en milieu acide faible.

Afin de mener, au mieux, la réaction de désacétylation en mode batch, nous avons choisis les conditions opératoires suivantes :

- Taux de dilution: 1g de chitine pour 50 mL de solution de NaOH
- Concentration de NaOH : 40%
- Temps de réaction: 15 jours
- Température ambiante.

Au terme de la réaction, la solution est filtrée sur tamis; le chitosane retenu est lavé en continu afin d'éliminer la soude résiduelle, et ce jusqu'à ce que le pH de l'eau du lavage atteigne la neutralité. Le chitosane est rincé avec l'eau distillée puis séché à l'étuve à 80°C.

Enfin, l'ensemble des étapes à savoir l'extraction de la chitine à partir de la carapace de crevette blanche et sa transformation en chitosane, sont représentées ci-dessous :

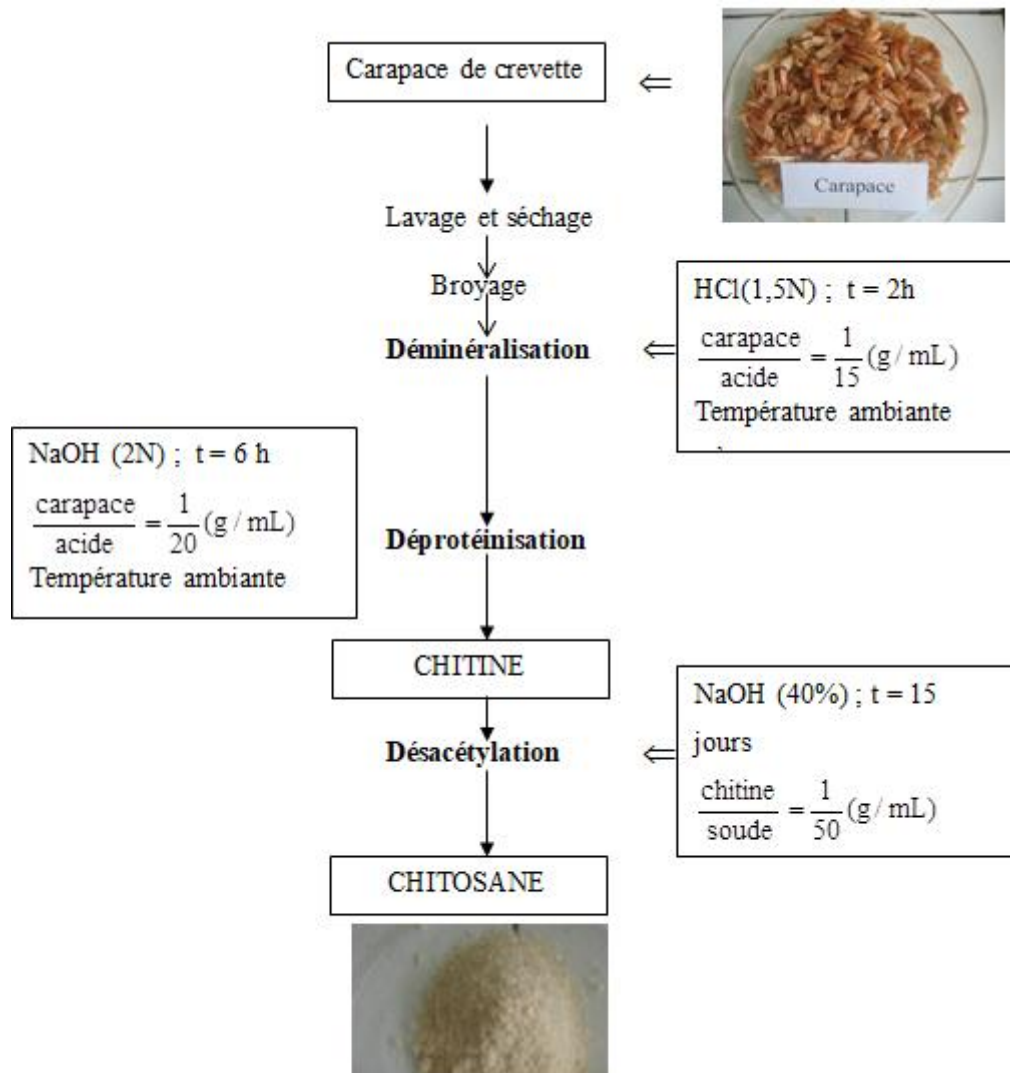


Figure III.2: Les étapes d'obtention du chitosane à partir de la carapace de crevette

III.2.3.1 Viscosité du chitosane brut

Un **viscosimètre** est un appareil destiné à mesurer la viscosité des fluides. Il existe deux types de **viscosimètre**: les viscosimètres de « process » et les viscosimètres de laboratoire.

Les viscosimètres rotationnels de laboratoire à affichage numérique mesurent le couple nécessaire pour faire tourner une tige généralement en immersion dans un fluide. Les plus communs sont de type «Brookfield». Au laboratoire on dispose d'un viscosimètre de type BROOKFIELD LV Spinle SET MIDDLE BORO 02348 USA La tige est entraînée en

rotation par un moteur en passant par un ressort étalonné. La résistance à l'écoulement va augmenter en fonction de la grosseur de la tige et/ou la vitesse de rotation.

En effet, en raison de la présence d'un moteur et en fonction de la fréquence d'utilisation, la mesure de viscosité peut diverger assez rapidement et des étalonnages réguliers sont nécessaires. De plus, avec ces systèmes, il est impossible de mesurer des fluides de très haute viscosité, des produits colmatants, ou encore des produits fibreux.

III.2.4 Elaboration des membranes

L'élaboration de matériaux à base de biopolymères sous forme de membranes s'effectue par plusieurs méthodes, presque identiques, proposées par plusieurs chercheurs (Muzzarelli, 1977), mais la plus employée est celle de Muzzarelli (Khan et al., 2000) qui se base sur la formation des films par voie humide (**solvant casting**), cette méthode repose sur la séparation du matériau filmogène de la phase solvant par précipitation ou par changement de phase ou par l'évaporation du solvant.

La formation de la membrane est le résultat de l'augmentation de la concentration en polymère, entraînant l'agrégation des molécules et la formation d'un réseau physique tridimensionnel.

Cette méthode, nous l'avons appliquée en laboratoire pour préparer les membranes de chitosane brut, et plastifiées

L'élaboration de membranes à base de matériaux naturels ou synthétiques, en particulier le chitosane, peut être réalisée par diverses méthodes, presque toutes identiques, proposés par plusieurs chercheurs (Muzzarelli, 1977), mais pour notre travail nous avons suivi la méthode de (Miranda et al., 2004).

III.2.4.1 Préparation des membranes à base de chitosane brut

Une solution de chitosane 2%(w/v) est obtenue en solubilisant 2g de chitosane poudre dans 100mL d'acide acétique1%(v/v). Une agitation magnétique constante est maintenue pendant 2 heures avec chauffage à 60°C. Ensuite, 46 mL de la solution obtenue est coulée dans des moules rectangulaires de 160 mm x 90 mm suivi d'un séchage à température ambiante pendant 72 heures. Enfin, les membranes ainsi formées sont démoulées puis immerger dans une solution de soude pour assurer leur neutralité et leur insolubilité.

III.2.4.2 Plastification des membranes à base de chitosane brut

En ce qui concerne la plastification du chitosane brut, nous nous sommes inspirés du protocole expérimental développé par Miranda et al (2004):

La solution de chitosane plastifié a été préparée en mettant 2 % de chitosane en poudre dans 100 mL de solution d'acide acétique 1%(v/v) avec chauffage (60°C) et sous agitation magnétique pendant 2 heures. Ensuite on a versé 34 mL de la solution obtenue dans un bécher au quel on a rajouté 6 mL de solution contenant X g de Glycérol et 6 mL de solution contenant X g de PEG. Après homogénéisation du milieu, on a versé le mélange dans des moules, fabriqués avec du plexiglas, de forme rectangulaire de 160 mm x 90 mm suivi d'une évaporation à température ambiante (25°C) pendant 72 heures.

Les compositions des mélanges chitosane/Glycérol/PEG sont respectivement les suivantes : 2/2/2 ; 2/1.5/1.5 ; 2/1/1 ; 2/0.5/0.5.

III.2.5 Caractéristiques et méthodes d'évaluation

III.2.5.1 Epaisseur des films

L'épaisseur des films a été mesurée en différents points de chaque membrane par le biais d'un micromètre électronique Micromètre : Fowler Instrument, IP 54, China, Avec une précision de 0,1 µm.

A partir de la courbe de contrainte-déformation des tests de traction, on peut déterminer :

- La contrainte de rupture (σ_r): quotient de la force appliquée au moment de la rupture de l'éprouvette à la section initiale.
- Le module d'élasticité(E_m): la tangente à l'origine de la courbe contrainte-déformation.

- L'élongation de la rupture: $\varepsilon(\%) = \frac{\Delta L}{L_0} \times 100$

III.2.5.2 Propriétés mécaniques

La caractérisation mécanique des membranes est effectuée en traction sur des éprouvettes en forme de ruban découpées à partir des films de chitosane (brut et plastifié).L'éprouvette a une géométrie utile de 50 x 10 mm (longueur x largeur).Les rubans sont conditionnés à humidité relative et température contrôlées (23°C ; 58% HR) avant les tests. Ils sont testés à l'aide d'une machine de traction 8ZWEIK/ROELL, 2.5KN pilotée par un logiciel

TESXTERT. La traction est fixée à 15 mm/minute et les mesures ont été réalisées jusqu'à la fracture de l'échantillon.

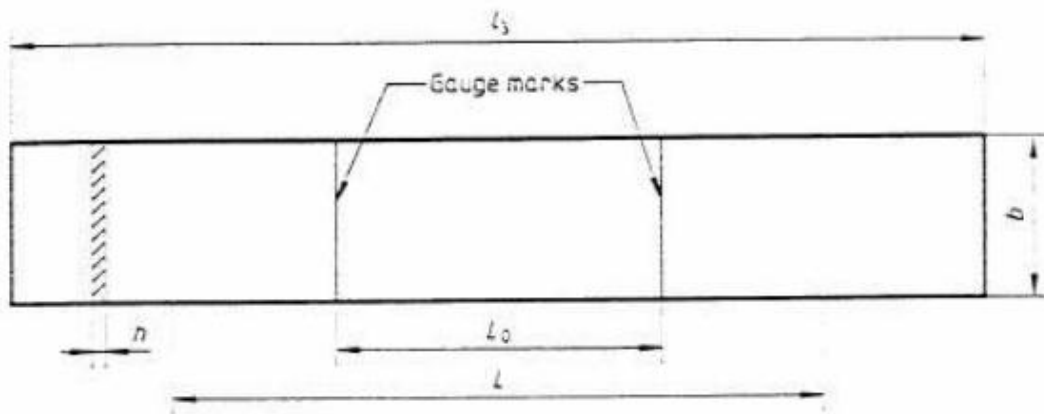


Figure III.3: l'éprouvette utilisée lors le test de traction uni-axiale

b: largeur: 10 mm à 25mm.

h: épaisseur ≤ 1 mm.

L_0 : longueur .

L_3 : longueur totale.

L: longueur totale du ruban $50 \text{ mm} \pm 0.5 \text{ mm}$.

Etant donné qu'il n'existe pas une norme spécifique pour la caractérisation des membranes par le test de traction ,on a suivi la norme ISO 527-3 spécifique pour les films et les feuilles.

III.2.5.3 Caractérisation d'une membrane par FTIR

Différentes techniques d'analyse ont été utilisées pour caractériser la structure des membranes telles que la Diffractogramme RX (DRX), infrarouge à transformée de Fourier (FTIR), et la thermogravimétrie (ATG)

Dans notre cas, nous avons caractérisé les membranes élaborées par infrarouge à transformée de Fourier (FTIR): les interactions entre les différents composants des membranes peuvent être identifiées selon l'intensité de la fréquence de liaisons qui unissent les différents atomes de chaque composant.

Les mesures ont été réalisées à l'aide d'un spectrophotomètre FTIR (SHIMADZU Infinity¹) d'intervalle de fréquence 4000 cm⁻¹ – 400 cm⁻¹, on a déposé l'échantillon sur support de diamant pour effectuer des mesures de réflectance totale atténuée (ATR) par PIKE Technologies Miracle sampling accessory. Cette technique est utilisée pour les huiles, les cristaux et les films de polymères.

III.2.5.5 Etude de gonflement

Etant donné que les membranes de chitosane ou de chitosane/plastifiants seront destinées à des applications où elles seront en contact avec l'eau telle que l'ultrafiltration. Et, vu le caractère hydrophile du chitosane et des plastifiants utilisés (absorbent l'eau), l'étude du comportement du gonflement de ces membranes présente une grande importance.

Pour mesurer la capacité de gonflement, les membranes de chitosane brut et du chitosane/PEG/Glycérol sont pesées à l'état sec et mises dans l'eau distillée à température du laboratoire. Après chaque 5-10-20 mn les membranes sont séchées pour éliminer l'excès d'eau pour être pesées par la suite.

La capacité de gonflement est calculée en utilisant l'équation (Kumar.,2000):

$$S\% = \frac{m_t - m_0}{m_0} \times 100$$

S% : pourcentage de gonflement.

m_t : masse de la membrane au temps t.

m₀ : masse de la membrane sèche au temps t=0.

III.3 Conception d'une cellule de filtration:

On dispose d'une cellule de filtration qui nous permet de tester la membrane réalisée à partir du chitosane plastifié de 60 cm² de surface. Voir les figures suivantes:



Figure III.4 .a : La cellule d'ultrafiltration

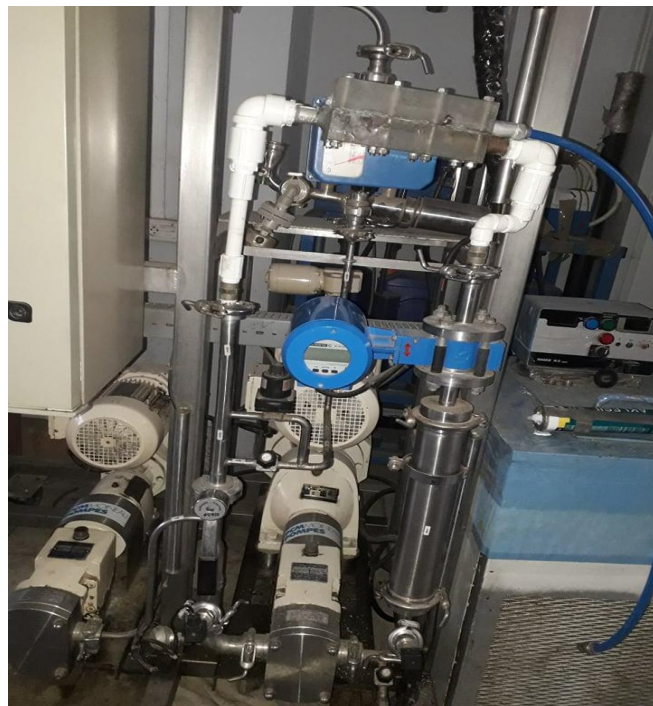


Figure III.4.b: La cellule de filtration avant démontage

Ce système sera utilisé pour tester la résistance de la membrane à la pression transmembranaire. Ce paramètre est primordial pour le développement de ce type de membranes.

IV RÉSULTATS ET DISCUSSION

IV.1.Extraction de la chitine

L'analyse physico-chimique de la carapace de crevette blanche (*parapenaeus longirostris*) a conduit Benhabiles et al. (2012) aux résultats expérimentaux suivants:

- Humidité : 2,0%
- Cendres : 20%
- Protéines : 40%
- Lipides : 15%
- Chitine : 23%

Il apparait nettement que la teneur en chitine est, non seulement comparable à celles citées par la bibliographie (Tableau I.2), mais de plus, elle est relativement importante qu'une tentative de récupération pour produire la chitine et de ses dérivés donnera sans doute satisfaction.

IV.1.1 Déminéralisation

Bien que la réaction de déminéralisation est relativement rapide puisqu'un rendement supérieur à 90% a été atteint au bout de 30 minutes (Benhabiles et al., 2012).

Dans notre cas, le prolongement du temps de contact jusqu'à 2 heures, nous a permis de réduire la matière minérale jusqu'à 99% contre un taux de déminéralisation de 98% obtenu par Benhabiles et al.(2012). Ceci est sans doute un avantage pour la désacétylation.

IV.1.2 Déprotéinisation

Actuellement, la déprotéinisation se fait souvent à des températures supérieures à 60°C selon la nature des diverses matières premières utilisées. Ceci limite toute tentative de récupération et de valorisation des protéines qui sont dénaturées.

Du fait que les protéines apparaissent comme étant les constituants prépondérants de la carapace de la crevette blanche, une déprotéinisation à des températures plus basses est donc nécessaire afin de garder l'aspect nutritionnel de ces polymères.

Dans ce sens, la réalisation de l'étape de déprotéinisation à température ambiante était nettement bénéfique durant cette étude. En effet, un taux de déprotéinisation de 97% a été atteint au bout de 6 heures contre un taux de déprotéinisation de 94% obtenu par Benhabiles et al. (2012) à 45°C et un temps de contact de 2 heures.

De plus, une bonne déprotéinisation est à la base de la production d'un chitosane soluble. En effet, la viscosité est le paramètre physico-chimique le plus important qui influence les performances du chitosane dans ses diverses applications (Toan, 2011).

IV.2 Production de chitosane à partir de la chitine la désacétylation:

Le coût élevé de la transformation de la chitine en chitosane est sans doute la cause principale qui limite la réalisation de cette production à l'échelle industrielle. En effet, la désacétylation s'effectue habituellement dans des solutions de NaOH de 40% à 50% et des températures qui souvent dépassent les 100°C. Ainsi, l'optimisation de ce procédé devient plus que nécessaire mais elle dépend du produit final voulu.

Dans notre cas, le prolongement du temps de réaction jusqu'à 15 jours à température ambiante, nous a permis d'obtenir un chitosane très soluble dans une solution d'acide acétique diluée.

Si l'extraction de la chitine est aujourd'hui facilement réalisable, l'étape la plus délicate reste la désacétylation qui nécessite de substituer suffisamment les groupements acétyles pour aboutir au chitosane, ce qui peut entraîner une réduction excessive de la longueur de la chaîne du polymère. En jouant sur la durée du traitement alcalin et sur l'élévation de température, il est donc possible d'obtenir différents chitosanes à partir d'une même chitine. Un DA inférieur à 10 % est rarement atteint par un procédé simple, la désacétylation totale nécessite plusieurs étapes. L'échantillon étant soit lavé, soit dissous et reprécipité entre deux cycles.

IV.2.1 Caractérisation du chitosane

La chitine et le chitosane sont principalement caractérisés par leur degré d'acétylation (DA) et par leur masse molaire, dont la détermination nécessite la mise en solution du polymère. Le degré d'acétylation présente le taux de groupe acétylé par rapport au groupe non acétylé. De nombreuses méthodes sont proposées afin de déterminer le DA sur des échantillons solides : la spectroscopie IR (Brugnerotto, 2001), l'analyse élémentaire (Kasaai et

al., 1999), la RMN solide (Heux et al., 2000), ou sur des échantillons en solution : dosage UV (Maghami et Roberts, 1988), titrage colloïdal (Chen et al., 1997), RMN liquide (Yang et Montgomery, 2000).

IV.2.1.1 Détermination du degré de désacétylation (D.D) par FTIR :

Les spectres infrarouges du chitosane brut et du chitosane commercial, réalisés à l'aide d'un spectromètre FTIR (Shimadzu Infinity⁻¹) dans la plage de 400-4000 cm⁻¹ sur un support de diamant, sont représentés ci-dessous :

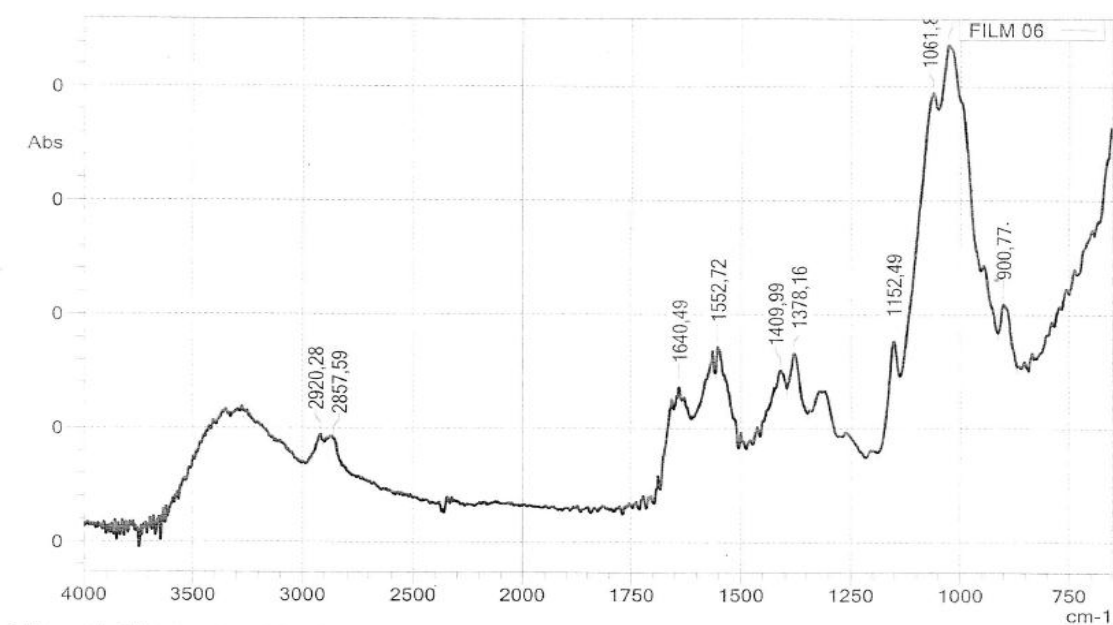


Figure IV.1 : Spectre IR de la membrane de chitosane brut

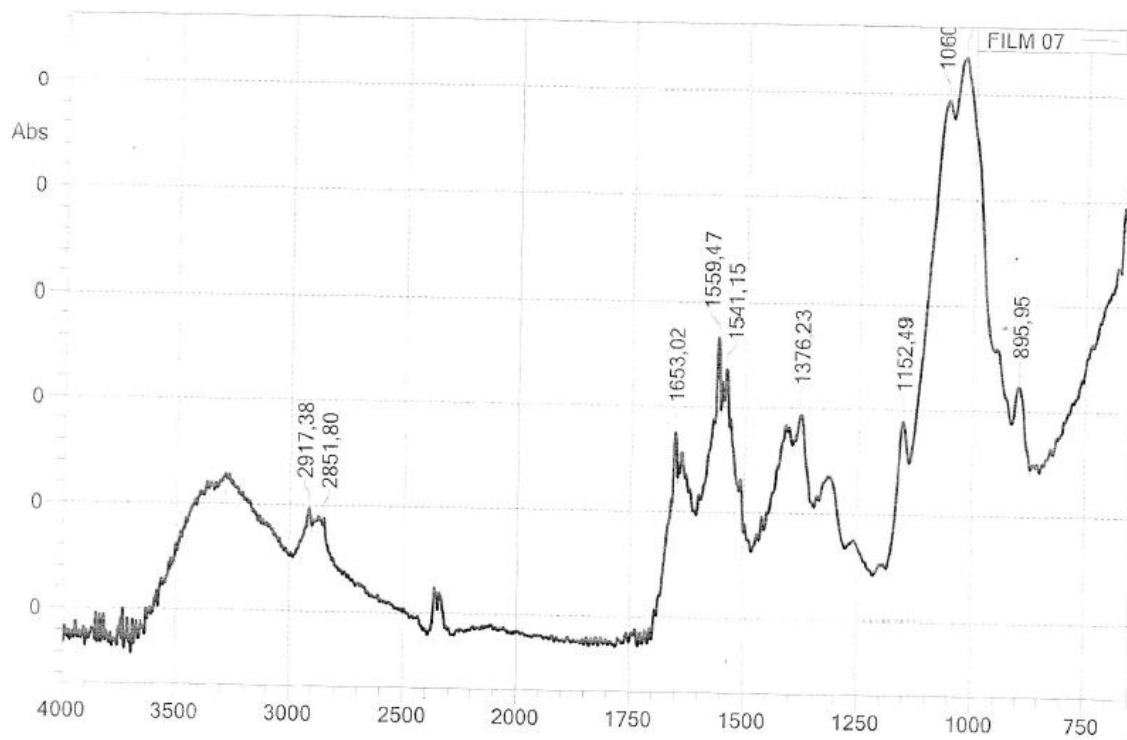


Figure IV.2 : Spectre IR de la membrane de chitosane commercial

Les spectres infra-rouges des deux chitosane sont très similaires à ceux publiés dans la littérature (Bough et al .,2004; Rinaudo .,2006).

Les pics obtenus sont résumés dans le tableau si dessous :

Nombre d'ondes cm^{-1}		Attribution
Chitosane brut	Chitosane commercial	
3400	3420	Elongation -OH
900.77-1027	896-1023	Elongation asymétrique C-O-C
1640	1653	Déformation amide I(C=O)
1553	1559	Déformation amide II (N-H)
1410	1376	Déformation CH_2 et CH_3
1320	1320	Déformation amide III (C-N)

Tableau IV.1: Principales bandes d'absorption IR du chitosane brut et du chitosane commercial

Les absorbances aux fréquences théoriques 1655 cm^{-1} et 3450 cm^{-1} sont responsables de la détermination du degré de désacétylation (Sabnis et Block., 1997). Le rapport d'absorbance (A_{1655}/A_{3450}) donne le meilleur résultat pour les DD inférieurs à 97% (Kurita, 2001; Lima et Airolidi, 2003).

Dans notre cas, les fréquences obtenues pour le chitosane brut sont 1640 cm^{-1} pour la fonction carbonyle représentée par l'amide (I) et 3400 cm^{-1} pour la fonction hydroxyle (O-H) tandis que pour le chitosane commercial les absorbances respectivement sont 1653 cm^{-1} et 3420 cm^{-1} .

Détermination du degré de désacétylation DD:

Le degré de désacétylation est déterminé par la formule de Khan et al (2000) :

$$DD\% = \%NH_2 = [1 - (A_{1655}/A_{3450}) * 1/1.33] * 100$$

Enfin, les principales caractéristiques physico-chimiques du chitosane brut préparé à partir de la carapace des crevettes blanches, comparées à celles d'un chitosane commercial, sont les suivantes:

Paramètre	Chitosane brut	Chitosane commercial
Couleur	Blanche	Jaune pâle
D.D (%)	63,7	63,6

Tableau IV.2: Caractéristiques physico-chimiques des deux chitosanes.

Tout d'abord, faisons remarque que la couleur blanche du chitosane brut préparé au laboratoire témoigne l'absence de pigments malgré que ce dernier a été élaboré sans étape de décoloration. En plus, un degré de désacétylation comparable à celui d'un chitosane commercial.

D'une manière générale, le degré de désacétylation (D.D) du chitosane varie entre 55 et 99% avec une moyenne de 80%. De plus, la solubilité du chitosane dépend fortement de ce paramètre. Pour des valeurs de D.D > 60% le chitosane devient soluble en milieux adéquats (Fernandez-Kim, 2004).

IV.3 Test de solubilité et de viscosité

Le chitosane brut, obtenu au sein du laboratoire, était très soluble dans une solution d'acide acétique 1% (V/V). Malheureusement, la mesure expérimentale de la viscosité de ce chitosane à l'aide du viscosimètre BROOKFIELD LV Spindle set Middleborn m-02346 U.S.A était impossible même en utilisant les sondes 3 et 4 qui sont habituellement destinées aux mesures des viscosités élevées.

Ceci, nous permet de conclure que la viscosité de notre chitosane était supérieure à 6000 Cp. D'ailleurs, ce fait était visible à l'œil nu car lorsqu'on a commencé à agiter le chitosane brut dans la solution d'acide acétique 1%(V/V), la formation du gel était instinctive.

IV.4. Caractéristiques des membranes élaborées

IV.4.1 Aspect physique et épaisseur

Les membranes élaborées à partir du chitosane **brut** sont:

- transparentes,
- compacte,
- présentent une surface lisse sans fissures,
- avec l'inconvénient d'être dures et cassantes.

En revanche, les membranes élaborées à partir du chitosane brut **plastifié** sont:

- transparentes,
- lisses,
- couleur légèrement jaunâtre,
- ayant une certaine souplesse et plasticité.

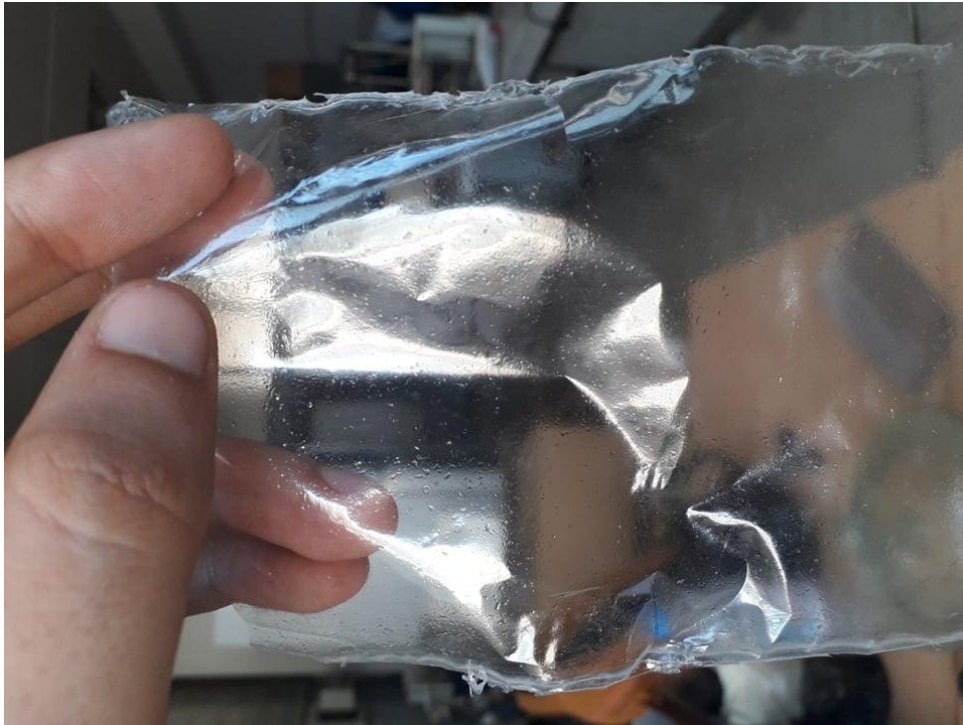


Figure IV.3: Membrane de chitosane brut

En ce qui concerne les mesures des épaisseurs moyennes des membranes préparées, les résultats sont énumérés dans le tableau ci-dessous:

Membranes	Epaisseur en mm
2% Chitosane	0.057
2% Chitosane +0.5% PEG +0.5% Glycérol	0.031
2% Chitosane +1% PEG +1% Glycérol	0.079
2% Chitosane +1.5% PEG +1.5% Glycérol	0.085
2% Chitosane +2% PEG +2% Glycérol	0.514

Tableau IV.3 : Epaisseur moyenne des membranes préparées

D'après les valeurs moyennes des épaisseurs des différentes membranes élaborées au sein du laboratoire, nous pouvons conclure que ce paramètre physique augmente avec l'ajout d'autres composés au chitosane. La plus faible étant pour le film de chitosane 2% et la plus élevée pour le film de chitosane 2% + PEG 2% + Glycérol 2%.

IV.4.2 Test de traction mécanique :

Les résultats statistiques des tests de traction, effectués sur cinq rubans de chaque échantillon, sont illustrés dans le Tableau IV.4 et la Figure IV.4 :

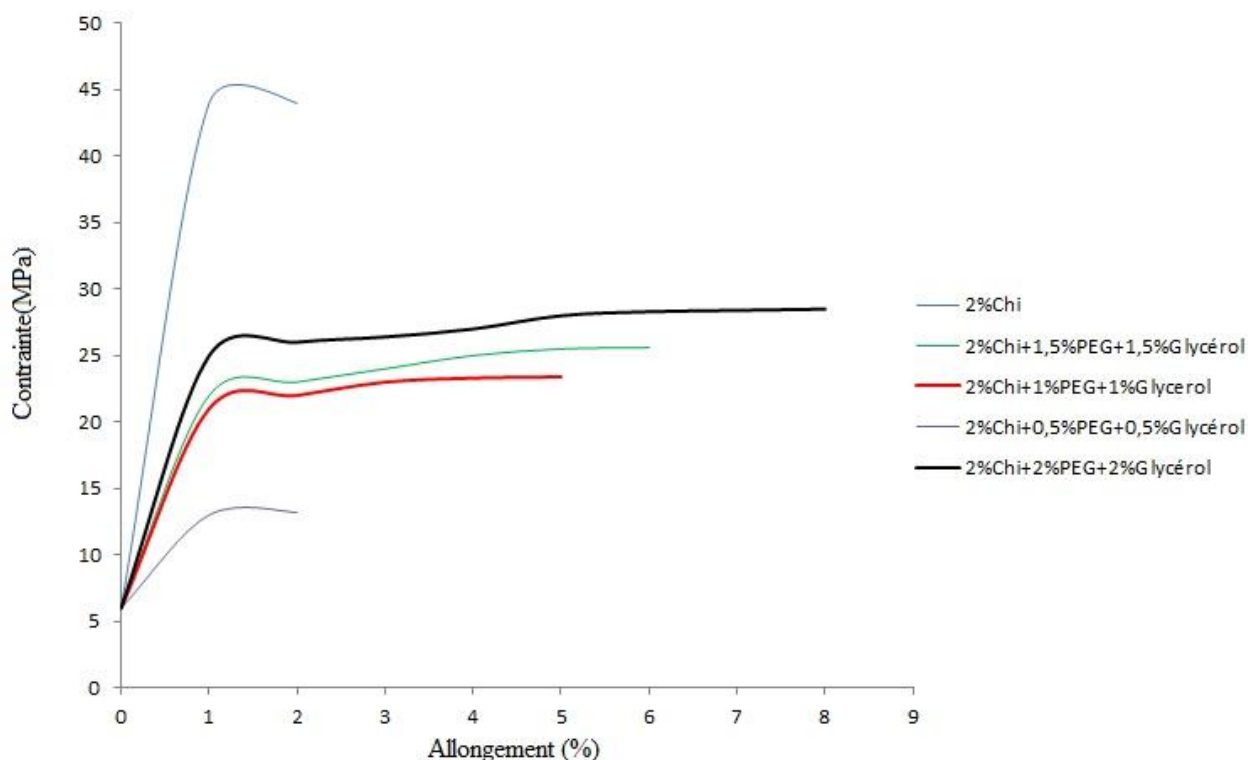


Figure IV.4: Courbes de contrainte-déformation des membranes

Membranes	σ_r (Mpa)	ϵ_r (%)	Module de Young (MPa)
2% Chitosane	44.8	2.1	2133
2% Chitosane +0.5% PEG +0.5% Glycérol	13.5	2.1	642
2% Chitosane +1% PEG +1% Glycérol	22.1	5.2	425
2% Chitosane +1.5% PEG +1.5% Glycérol	23.2	6.3	368
2% Chitosane +2% PEG +2% Glycérol	26.5	8.4	315

Tableau IV.4: les propriétés mécaniques des membranes

D'après la figure IV.4 et le tableau IV.4, on peut constater que l'ajout du PEG et du Glycérol :

- Diminue la contrainte à la rupture (σ_r) et le module de Young du chitosane, et augmente l'allongement à la rupture (ϵ_r) des membranes. Ce qui nous mène à dire que le PEG et le glycérol sont des plastifiants efficaces pour rendre les membranes de chitosane plus ductile. Cela est probablement dû à la nature hydrophile de ces plastifiants : présence de trois fonctions -OH pour le glycérol et deux pour le PEG. Certaines théories ont été proposées pour expliquer le mécanisme d'action des plastifiants: la théorie de la lubrification, qui postule que le plastifiant par insertion entre deux chaînes de polymères donnera lieu à un enchevêtrement des chaînes, réduisant ainsi les interactions intermoléculaires en diminuant les ponts hydrogène entre ces derniers (Zhong et al., 2007).

On peut dire que la plastification du chitosane avec le glycérol et le PEG a facilité les mouvements de la chaîne polymérique du chitosane et par conséquent, favoriser l'allongement du film (membrane) qui atteindra la plus grande valeur pour le mélange 2g PEG et 2g de Glycérol.

IV.4.3 Test de gonflement

Après avoir pesé les membranes avant et après introduction dans l'eau distillée, pendant 5; 10 et 20 min, nous avons atteint la saturation des membranes après 35 min d'immersion.

Membrane	Pourcentage de gonflement % (5mn)	Pourcentage de gonflement % (10mn)	Pourcentage de gonflement % (20mn)
2% Chitosane	307.5	319.2	335.9
2% Chitosane +0.5% PEG +0.5% Glycérol	76	77.4	77.7
2% Chitosane +1% PEG +1% Glycérol	79.1	80.1	81.4
2% Chitosane +1.5% PEG +1.5% Glycérol	82	82.6	88.4
2% Chitosane +2% PEG +2% Glycérol	285	311	315.5

Tableau IV.5 : Le pourcentage de gonflement des membranes

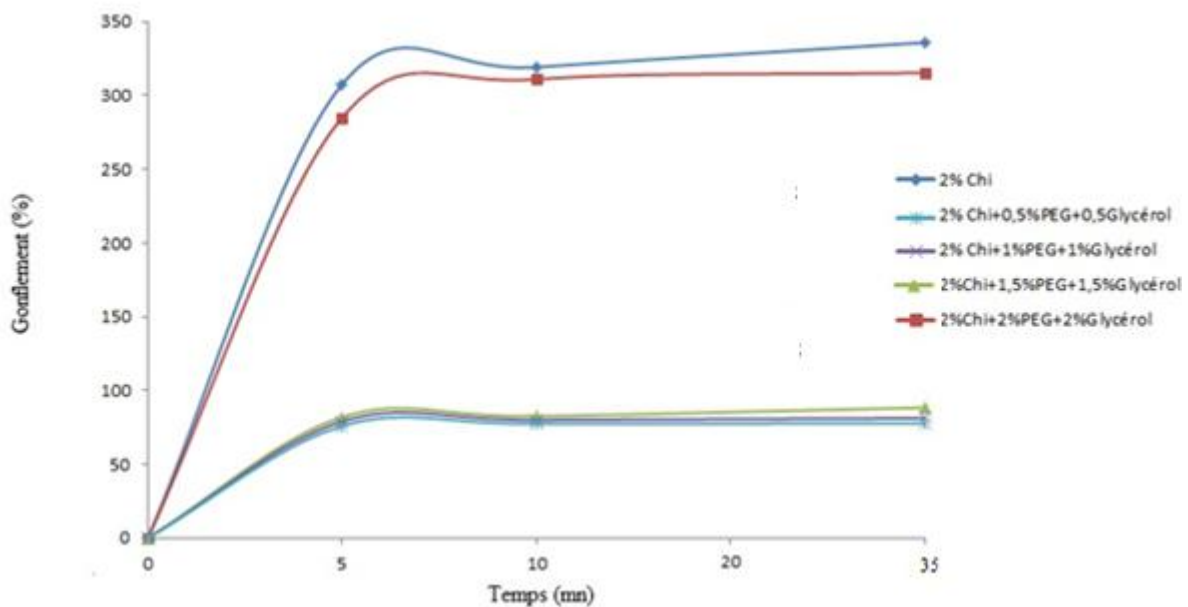


Figure IV.5 : courbes cinétiques de gonflement des membranes

Selon les variations du pourcentage de gonflement des membranes en fonction du temps, illustrées sur la Figure IV.5, on remarque que le taux de gonflement augmente avec l'ajout du plastifiant. Le taux de gonflement le plus élevé a été obtenu pour la membrane de

chitosane brut (335.9%) et le plus faible (77,7%) pour la membrane de chitosane brut plastifié (chitosane 2% + PEG 0.5% + Glycérol 0.5%).

Donc, il est clair que l'introduction des plastifiants: PEG et Glycérol, de nature très hydrophile, augmente l'effet hygroscopique et par conséquent le gonflement des membranes. On peut, encore une fois, dire que PEG et Glycérol sont les plastifiants recommandés pour l'élaboration des membranes d'ultrafiltration.

IV.4 Test de tenue à la pression transmembranaire:

La membrane élaborée a été testée sur la cellule préalablement présentée dans la partie Matériels et Méthodes, voir Figure III.4.b.

Il a été constaté lors de la montée de la pression que la membrane n'a pas pu résister à des pressions supérieures à 0.8 bar, malgré toutes les précautions prises pour éviter une hausse de pression brusque au niveau de la membrane.

Cette constatation a été confirmée lors du démontage de la cellule où nous avons pu contrôler l'état de la membrane que nous présentons sur la Figure IV.6:



Figure IV.6: Etat de la membrane après le test.

En effet nous constatons que la membrane a subi plusieurs coupures indiquant que l'épaisseur retenue lors de son élaboration n'était pas suffisante. Ce qui nous amène à préconiser une épaisseur supérieure afin de conférer une meilleure résistance mécanique à la membrane.

V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'objectif principal de notre travail était, à l'origine, de valoriser un sous-produit marin (la carapace de crevette) pour obtenir du chitosane. Etant donné que ce biopolymère est bien connu pour ses propriétés intéressantes, en particulier filmogène. Malheureusement, après la transformation du chitosane en membrane, cette dernière présente l'inconvénient d'être cassante, dure et sensible à l'humidité.

Afin de bien exploiter ses propriétés nous avons proposé d'introduire deux plastifiants : le polyéthylène glycol (PEG) et le Glycérol, qui possèdent un caractère plastifiant en plus de leur compatibilité est leur miscibilité avec le chitosane.

Dans ce sens, nous avons élaboré des membranes en mélangeant les trois polymères, par voie humide, à des proportions bien définies et ensuite nous avons réalisé des tests physico-chimiques pour établir leurs principales caractéristiques.

Pour cela, nous avons utilisé certaines techniques de laboratoire à savoir :

- La mesure de l'épaisseur et les tests de traction uni-axiale pour le comportement mécanique et le FTIR pour l'obtention du DD étant donné que la viscosité du gel avant moulage était très élevée pour être mesurée avec le viscosimètre du laboratoire.
- L'étude du comportement mécanique des membranes du chitosane plastifié testées en traction uni-axiale a montré que l'introduction du PEG et du Glycérol a pu améliorer la ductilité des membranes en les rendant plus élastiques.
- L'étude du gonflement a montré que l'introduction du PEG et du Glycérol à faible concentration réduisait la tendance d'absorption d'humidité du chitosane. Cependant à des concentrations plus élevées, il est clair que l'introduction des plastifiants : PEG et Glycérol, de nature très hydrophile, augmente l'effet hygroscopique et par conséquent le gonflement des membranes.

A partir des résultats obtenus nous pouvons affirmer la parfaite compatibilité et miscibilité des trois polymères.

Enfin, il serait intéressant de continuer nos travaux en augmentant l'épaisseur de nos membranes plastifiées jusqu'à l'obtention d'une résistance aux pressions transmembranaires usuellement utilisées en ultrafiltration. Ensuite, on entamera une étude sur la dégradation et la durabilité de ces membranes.

Références bibliographique:

Aimar P. et Daufin G. (2004) Séparation par membrane dans l'industrie alimentaire. Technique. de l'Ingénieur . F3250.

Aimar P., Sanchez V. (1989) Le colmatage des membranes d'ultrafiltration et de microfiltration. *J. Food Chem. Biotech.* 44, 203 – 213.

ALLGEIER, S. (2001) Overview of regulatory issues facing microfiltration and ultrafiltration, Proceedings of the 2001 Membrane Technology Conference of the American Water Works Association, San-Antonio, Texas, USA.

Alves, V.D., Mali, S., Beléia, A. and Grossmann, M. V. E. (2007). Effect of glycerol and amylose enrichment on cassava starch film properties. *Journal of Food Engineering*, 78(3), 941–946.

Angone S.A. , Nguema-Ona E. , Driouich A ; 2010. La thérapie par les plantes en Afrique : activités immunostimulantes des polysaccharides de la paroi végétale Article original

Anselme, C., and E.P. Jacobs. 1996. Ultrafiltration. (ed.) Mallevalle, J., P.E. Odendaal, M. R.

Arai. L.,Y. Kinumaki et T.Fyjita. Toxicity of chitosan. *Bull.Tokai Reg. Fish,Res.Lab.* (1968) 56 :SC.

Attila E. Pavlath,Dominic W.S. Wong and George H.Robertson : Chitosane(preparation structure and properties).2003.31-.5.

Audinos R. et Isoard P. (1986) Glossaire des termes techniques des procédés à membrane. Société Française de filtration.

Austarheim I , Christensen B. E, Hengnaa I. K, Petersen B. O, Duusc J. O, Bye R, Baxter A., Dillon M., Taylor K.D.A., Roberts G.A.F. (1992) Improved method for IR determination of the degree of N-acetylation of chitosan. *Int. J. Biol. Macromol.* , 14 , 166 – 169.

Berth,G.,H. Dautzenberg et M. G. Peter . Physico-chemical characterisation of chitosans varying in degree of acetylation. *Carbohydrate Polymers*, 36 (1998) pp 205 -218.

BEST. G., MOURATO D. et SINGH M. (2001) *Application of immersed ultrafiltration membranes on high turbidity and high TOC surface waters*, Proceedings of the 2001 Membrane Technology Conférence of the American Water Works Association, San-Antonio, Texas, USA.

Boland, M.J. (2002). Aqueous two-phase extraction and purification of animal proteins. *Molecular Biotechnology*. 20, 85-93.

Boles, J. A. Rathgeber, B.M. & Shand, P.J. (2000). Recovery of proteins from beef bone and the functionality of these proteins in sausage batters. *Meat Science*. 55, 223-231.

Boual Z , Chouana Z, Kemassi A, Hamid A, Oudjan M. Daddi B, Michaud P, Ould El Hadj M.D ; 2015.Étude physicochimique et biologique des polysaccharides hydrosolubles de *Plantago notata* Lagasca (Plantaginaceae). *Phytothérapie* vol (13) :396-402.

Brine,C.J.,& Austin. Chitin variability with species and method of preparation *Comparative Biochemistry and Physiology*,69B,P.R.(1981)283-286.

Brugherotto, J., Ggoycoolea,F. M.,ArgU elles-Monal,W.,Desbrière,J.,& Rianudo , M. An infrared investigation in relation with chitin and chitosane characterisation.*Polymer*,42, (2001) 3569-3580.

Bueno-Solano C., Lopez-Cervantes J., Campas-Baypoll O.N., Lauterio-Garcia R., Sanchez-Machado D.I. (2009) Chemical and biological characteristics of protein hydrolysates from fermented shrimp by-products. *Food Chem.*, 112, 671 – 675.

Butler ,R.O. ;Marcy,G.W. ;Williams,E. ;McCarthy,C.Attaining Doppler Precision of Ms⁻¹.1996. Publications of the Astronomical Society of the Pacific, v.108, p.500.

C. Tanford. Physical chemistry of macromolecules. NY: Wiley; 1961.

Chandra, R. and Rustgi, R. (1998) Biodegradable Polymers. *Progress in Polymer Science*, 23, 1273-1335.

Chen, R. H. et M. L. Tsaih. Effect of temperatures on the intrinsic viscosity and conformation of chitosane in dilute HCL solution. *Int. J.Biol. Macromol.*,23(1998) pp 135-141.

Chen V., Fane A. G., Wenten G. (1997) Particle deposition during membrane filtration of colloids: transition between concentration polarization and cake formation. *J. Memb. Sci.* 125, 109 – 122.

CORPET DE (2001) Aliments fonctionnels et réduction du risque de développer un cancer. In: ROBERFROID M, éditeur. Aliments fonctionnels. Paris : Tech. & Doc., Lavoisier, 349-405.

CORPET DE, PARNAUD G (1999) Polyethylene-glycol, a potent suppressor of azoxymethaneinduced colonic aberrant crypt foci in rats. *Carcinogenesis*, 20, 915- 918.

Desbrières J. (2002). Chitin and chitosan. Chitine et chitosane. 39-44.

Dr. Susan A. J. Daniel .T. Armstrong Robet E. Gore- Langton.(1989). Article Growth and development of rat oocytes in vitro.

Epichlorhydrine. In Chimie Industrielle. Perrin, R. et Scharff, J.-P., Ed. Dunod, Paris, 1999, p562. ISBN 2 10 004753 1.

Fang, J.Y., Chen, A.P., Peng, C.H., Zhao, S.Q., Ci, L.J., 2001. Changes in forest biomass carbon storage in China between 1949 and 1998. *Science* 292, 2320–2322.

Franca, J.R., et al., Bimatoprost- loaded ocular inserts as sustained release drug delivery systems for glaucoma treatment: in vitro and in vivo evaluation. *PloS one*, 2014. 9(4): p. 61-95.

Fernandez-Kim S. O. (2004) Physicochemical and functional properties of crawfish chitosan as affected by different processing protocols, Thesis, Louisiana State University.

Fridrun Podczek, Brian E. Jones. Pharmaceutical Press, 2004 - Business & Economics - 272 pages. 3

G. Lang, T. Clausen. G. Skjåk-Break, T. Anthonsen, P. Sandfjord (Eds.), Chitin and Chitosan, Elsevier, London (1989), p. 139. 3. E. Onsøyen. Proc. 5th Int. Conf.

Grégorio Crini , Pierre-Marie Badot. Application of chitosan, as natural aminopolysaccharid , for dye removal from aqueous solutions by adsorption process using batch studies . *Prog .Polym.Sci.* (2007).

Hermann Staudinger (1953), International Historic Chemical Landmark Dedicated April 19, 1999, at the Hermann Staudinger House at the Institute of Macromolecular Chemistry in Freiburg, Baden-Württemberg, Germany. pp 375-376.

- Heux L., Brugnerotto J., Desbrières J., Versali M.F., Rinaudo M. (2000) Solid state NMR for determination of degree of acetylation of chitin and chitosan. *Biomacromol.*, 1, 746 – 757.

Holy Rabetalika, Michel Paquot, Philippe du bois « les polymères issus du végétal : matériaux à propriété spécifiques pour des applications ciblés en industrie plastique », service des matériaux polymères et composites, université de Mons Hainant Belgique. Le 28 mars 2006.

Huh KM, Bae YH. Synthesis and characterization of poly(ethylene glycol)/poly(-lactic acid) alternating multiblock copolymers. *Polymer*. 1999;40:6147-6155.

Ilan, Uzun :Kinetics of the adsorption of reactive dyes by chitosane. *Dyes and Pigments* 70(2006) 76-83.

Jean-Marc BERLAND et Catherine JUERY, Les procédés membranaires pour le traitement de l'eau, Décembre 2002..DOCUMENT TECHNIQUE FNDAE N°14, Office International de l'Eau SNIDE,

Kasaai M.R., Arul J., Chin S.L., Charlet G. (1999) The use of intense femtosecond laser pulses for the fragmentation of chitosan. *J. Photochem. Photobiol., A. Chem.*, 120, 201 – 205.

Ke Liang B. Chang, Gengia Tsai, John Lee, Wen-Rong Fu : Heterogeneous N-deacetylation of chitin in alkaline solution. *Carbohydrate Research* 30 (1997) pp 327-332.

Khan, T. A. & Peh K. K. & C'ing. Mechanical adhesive strength and biological evaluation of chitosan films for wound dressing. *Journal of Pharmaceutical and Pharmaceutical Science*, 3(3), H.S. (2000) 3003-3371

Khan T (2006). Financial Reporting Disclosure on the Internet: An International Perspective. Unpublished doctoral dissertation, Victoria University, Footscray Park, Victoria, Australia.

Kurita K. (2001) Controlled functionalization of the polysaccharide chitin. *Prog. Polym. Sci.*, 26, 1921 – 1971.

Kroschwitz, J.I., *Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology : Foams to Groundwater Monitoring*. Vol. 12, 5th ed. Hoboken, N.J. : John Wiley & Sons. (2004-).

Li X.-F., X.-Q., Feng S., Yang (2010) A mechanism of antibacterial activity of chitosan against Gram-negative bacteria. *Chines J. of Polym. Sci.*, 31 (13) 148 – 153.

Lima, I.S. and Airoidi, C. (2004) A thermodynamic investigation on chitosan-divalent cation interactions. *Termoch. Acta*, 421, 133– 139.

M.S. Benhabiles, R. Salah, N. Drouiche, M.F.A. Goosen, N. Mameri (2012) Antibacterial activity of chitin, chitosan and its oligomers prepared from shrimp shell waste. *Food Hydrocolloids* 29 (2012) 48-56.

Maghami G.C. and Roberts G.A.F. (1988) Evaluation of the viscometric constants for chitosan. *Die Makromol. Chem.*, 189 (1) 195 – 200.

Majeti N. V., Kumar R. (2000) A review of chitin and chitosan applications. *Reac. and Funct. Polym.*, 46, 1 – 27.

Malek Amiali : Caractérisation des films de chitosane par perméabilité à la vapeur d'eau et gaz (CO₂,H₂O) thèse.

Margurite Rinaudo, Michel Milas and Pham Le Dung : Characterization of chitosan. Influence of ionic strength and degree of acetylation on chain expansion. *Int. J. Biol. Macromol* , Vol. 15,(1993) october.

Mesfin M. Mekonnen 1, Markus Pahlow 1 , Maite M. Aldaya 2 , Erika Zarate 3 and Arjen Y. Hoekstra.(2013) Sustainability, Efficiency and Equitability of Water Consumption and Pollution in Latin America and the Caribbean.

Michaelsena T. E, Dialloe D, Inngjerdingen M, Paulsen S. B; 2012. Chemical and biological characterization of pectin-like polysaccharides from the bark of the Malian medicinal tree *Cola cordifolia*. *Carbohydrates Polymères*, vol 89: 259– 268.

Montserrat R. P. (2002) Development of techniques based on natural polymers for the recovery of precious metals. Thesis, Universitat Polytècnica de Catalunya.

Moorjani, M.N., Achutha, V . , & Khasim. Parameters affecting the viscosity of chitosane from prawn waste. *Journal of Food Science and Technology*,12,D.I.(1975) pp. 187-189.

Mukherjee D. P.; Method for producing chitin and chitosan; United States Patent Application; 6,310,188.

Muzzarelli C., Tosi G., Muzzarelli R.A.A., (2004) Susceptibility of dibutyl chitin and regenerated chitin fibres to deacetylation and depolymerisation by lipases. *Carboh. Polym.*, 56, 137 – 146.

Muzzarelli R.A.A., Tanfani O. (1982) N-(O-Carboxybenzyl) chitosan, N carboxymethyl-chitosane and dithiocarbamate chitosan: derivatives of chitosane. *Pure & Appl.Chem.*, 54 (11) 2141 – 2150.

Muzzarelli, R A A .Some modified chitosans and their niche applications,*Chitine Handbook*.edited by R A A Muzzarelli and M G Peter (European Chitine Society,Italy) 1997,pp.47-52.

N. Bhattarai, H. R. Ramay, J. Gunn, F. A. Matsen and M. Zhang, *J. Controlled Release*, 2005, 103, 609–624

Namasivivayam C, Radhika R Suba S ?Uptake of dyes by a promising locally available agricultural solid waste :coir pith. *Waste Manage* ;7(2001) 21 :381.

NINA Quelenis « les bioplastiques, caractéristiques et réglementation », fiche technique,

Nisperos-Carriedo MO (1994) Edible coatings and films based on polysaccharides. In : Krochta.

No, H. K., & Meyers .Effect of time/temperature treatment parameters on depolymerization of chitosan. *Journal of Applied Polymer Science*, 87, S.P. (2003) 1890-1894.

No, H. K., & Meyers .Preparation and characterisation of chitin and chitosane. *Journal of Aquatic Food Project Technology*, 4, S .P. (1995) 27-52.

No, H. K., & Meyers, S.P., & Lee. Isolation and characterisation of chitin from craw ash shell waste. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 37, K.S. (1989) 575-579.

Nouar A. and Maurin C. (2001) Nature of and typical populations on the characteristic facieses of substratum of *Parapenaeus Longirostris* along the Algerian coast. *Crust.*, 74, 2, 129 – 135.

Toan N.V. (2011) Improved chitin and chitosan production from black tiger shrimp shells using salicylic acid pre-treatment. *Biomat. J.*, 3, 1 – 3.

Nugraha Edhi Suyatama, Développement de films biodégradables à base de chitosane : Etudes du mélange chitosane/PLA, de la plastification et de la compatibilisation. Thèse de doctorat, Université de Reims, juin 2006.

Nugraha Edhi Suyatama, Développement de films biodégradables à base de chitosane : Etudes du mélange chitosane/PLA, de la plastification et de la compatibilisation. Thèse de doctorat, Université de Reims, juin 2006.

Okamoto K, Brinker A, Paschen SA, Moarefi I, Hayer-Hartl M, Neupert W, Brunner M. (2002) Journal Article | Research Support.

Perrine VAUTROT. Thèse doctorat Les dangers de la cigarette électronique : la toxicité des e-liquides, 102-104.

Pettolino F., Liao M.L., Ying Z., Mau S.L., Bacic A., 2006. Structure, function and cloning of arabinogalactan-proteins (AGPs): an overview. *Food and Food Ingredients Journal of Japan* 211 : 12–25.

Pontié M. et coll. (2001) Les techniques séparatives à membranes – théories, applications et perspectives. Paris : Union Int. Pour les Appl. de l'électricité, pp. 212.

Qi H., Zhang Q., Zhao T., Chen R., Zhang H., Niu X., 2005. Antioxidant activity of different sulfate content derivatives of polysaccharide extracted from *Ulva pertusa* (Chlorophyta) in vitro. *International Journal of Biological Macromolecules* 37 : 195-199.

- Ravi Kumar, Chitin and chitosane applications. M.N.V. React function Polym. 46. (2000) 1-27
- Rinaudo M. (2006) Chitin and chitosan: properties and applications. Prog. Polym. Sci., 31 (7) 603 – 632.
- Roberts G.A. (1992) Chitin chemistry. Macmillan Press Ltd; London.
- Sabnis S., Block L.H. (1997) Improved infrared spectroscopic method for the analysis of degree of N-acetylation of chitosan. *Polym. Bull.*, 39, 67 – 71.
- Sandford M. Enhancement of chitosanase secretion by *Bacillus subtilis* for production of chitosan oligosaccharides. 1989. Food Chemistry. vol 3. 123-135.
- Shahidi F. and Abuzaytoun R. (1999) Chitin, chitosan, and co-products: chemistry, productions, applications, and health effects. *Adv. Food Nutr. Res.*, 49, 93 – 135.
- T.U.O.I.A. Urbana-Champaign, Membrane Technology, in, 2009.
- Wang, W. et Xu. Viscosity and flow properties of concentrated solutions of chitosan with different degree of deacetylation, *Int. J. Biol. Macromol.*, 23(1998) pp 135-141.
- Wiesner. Water Treatment Membrane Processes. American Water Works Association Research Foundation. Lyonnaise des Eaux. Water Research Commission of South Africa. McGraw-Hill.
- Y. Pouliot, Membrane processes in dairy technology—From a simple idea to worldwide panacea, *International Dairy Journal*, 18 (2008) 735-740.
- Y.-L. Chiu, M.-C. Chen, C.-Y. Chen, P.-W. Lee, F.-L. Mi, U. S. Jeng, H.-L. Chen and H.-W. Sung, *Soft Matter*, 2009, 5, 962–965
- Zhong, R., Richardson, E.A., and Ye, Z-H (2007).. Two NAC domain transcription factors, SND1 and NST1, function redundantly in regulation of secondary wall synthesis in fibers of *Arabidopsis*. *Planta* 225: 1603–1611