

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحر و تهئية الساحل
Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral



Mémoire en vue de l'obtention du
Diplôme de Master en Sciences de la Mer
Option : Aquaculture

Thème :

**Mise au point d'un protocole d'extraction assistée aux
micro-ondes du chitosane à partir de carapaces de
crevettes
Applications dans différents domaines**

Présenté par :

BELMAHDI Mossaab

Soutenu le : 05/11/2014

devant le jury :

Mme. DJEGHRI.B
Mme. BACHARI-HOUMA.F
Mme. BOUBECHICHE.Z
M. HAMDI. B

Professeur
Professeur
Maître Assistante A
Professeur

Présidente
Examinatrice
Examineur
Encadreur

Promotion 2014

Remerciements

Avant de commencer la présentation de ce travail, je profite de l'occasion pour remercier toutes les personnes qui ont contribué de près et de loin à la réalisation de ce travail de fin d'étude

En premier lieu, je tiens à remercier ALLAH le tout puissant pour m'avoir donné la force et la volonté à finaliser ce travail.

J'adresse mes plus vifs et chaleureux remerciements à: Madame DJEGHRI-HOCINE Baida, Professeur à l'ENSSMAL, Madame BACHARI-HOUMA Fouzia Professeur à L'ENSSMAL, Madame BOUBECHICHE.Z Maitre assistant A Maitre assistante A , pour avoir accepté de participer à ce jury de mémoire de Master. Je suis sûre que vos conseils ainsi que vos vastes connaissances scientifique me seront plus qu'utiles.

Je remercie vivement à Monsieur HAMDI boualem pour son encadrement, ses critiques constructives, son regard méthodique et surtout sa patience pour me rendre plus rigoureuse.et pour son thème qui est très pertinent.

Mes vifs remerciements vont à mes chers parents, mon frère (Oussama), et merci toutes mes familles qui m'ont soutenu, dans tous les sens du terme, pour que je concrétise ce travail.

Et je n'oublie pas tous mes amies

Sommaire

Liste des Tableaux.....I
Liste des figures..... II
Liste des abréviationsIII

Introduction.....9

Chapitre I : généralité de la chitine et chitosane

I- Définition générale.....12
II- Source de la chitine et du chitosane.....13
III- Propriétés physico-chimiques de la chitine et du chitosane.....13
 III-1 Poids moléculaire.....13
 III-2 Viscosité13
 III-3 Degré d'acétylation (DA).....14
VI- Modifications de la chitine et de chitosane15
 VI-1 Les propriétés particulières du chitosane.....18
 VI-2 l'importance du degré Desacétylation18
 VI-3 Conditionnement des matériaux19

Chapitre II : Caractérisation et les applications

I- Caractérisation de la carapace de crevettes broyées.....20
II- Cinétique de déprotéinisation de la chitine.....20

III- Caractérisation du chitosane	21
III-1 Caractérisation par Microscopie Electronique à Balayage.....	21
III-2 Caractérisation par diffractométrie aux RX.....	22
III-3 Caractérisation par spectroscopie Infra Rouge à Transformée de Fourier.....	23
IV- Principales d'application de la chitine et de chitosane	25
IV-1 domaine biomédical et pharmaceutique.....	25
IV-1-1 L'activité cicatrisante.....	26
IV-1-2 Les applications en soin dentaire ou vétérinaire	29
IV-1-3 Les applications sur l'abaissement de cholestérol et diététiques.....	30
IV-1-4 Les applications Cosmétique	30
IV-1-5 L'activité antimicrobienne.....	31
IV-1-6 L'activité de chitooligosaccharides.....	31
IV-1-7 Le rôle de support matériel	31
IV-2 Agroalimentaire.....	33
IV-3 Agriculture.....	37
IV-4 traitements des eaux.....	38
IV-5 autres domaines d'application	40
V - Évolution des volumes de ventes par domaine d'application.....	41
Conclusion.....	45
Références bibliographique	48

II-Liste des figures :

Figure 1 : Structure chimique de la chitine	12
Figure 2: structure chimique du chitosane	12
Figure 3 : principaux dérivés de la chitine.....	15
Figure 4 : quelque exemple de conditionnements du chitosane	17
Figure 5 : taux d'élimination de l'azote pour une concentration de NaOH 1.5 N à deux puissances 450 Watts et 600 Watts.....	20
Figure 6 : taux d'élimination de l'azote pour deux concentrations de NaOH 7.5 N et 10N à deux puissances 450 Watts et 600Watts.....	21
Figure 7 : Observation par MEB de l'échantillon du chitosane à différents agrandissements.....	21
Figure 8: Diffractogramme des RX des chitosanes préparés ...	22
Figure 9 : spectre IR de du chitosane préparé avec du NaOH 10N à une puissance 800Watts.....	24
Figure 10 : Evolution du degré de désacétylation en fonction de la durée de contact.....	25
Figure 11 : Représentation de la peau brûler à l'état grave.....	26
Figure 12 : représentation tissu conjonctif de collagène.....	27
Figure 13 : Film comestible de chitosane (A) et son application dans la protection du poisson (B)	36
Figure 14: Evolution des domaines d'application pour lesquels le chitosane est employé.....	42

I-Liste des tableaux :

Tableau 1 : les trois principales voies permettant de dépolymérisation des chaînes de chitine et de chitosane.....	16
Tableau 2 : Usage potentiel pour plusieurs formes de chitine et de chitosane...	19
Tableau 3: tableau représente les différentes valeurs obtenues.....	20
Tableau 4 : Indice de cristallinité des chitosanes préparés.....	23
Tableau 5: principaux bandes IR caractéristiques du chitosane préparé.....	23
Tableau 6 : applications industrielles de la chitine et du chitosane dans les domaines biomédical et pharmaceutique.....	32
Tableau 7 : Applications industrielles de la chitine et de chitosane dans le domaine agroalimentaire.....	34
Tableau 8 : application de la chitine et du chitosane dans le domaine Agriculture.....	38
Tableau 9 : Application de la chitine et de chitosane dans le domaine de l'environnement.....	40
Tableau 10 : Autres domaines d'applications de la chitine et de chitosane.....	41
Tableau 11 : Répartition des applications du chitosane.....	43

Liste des abréviations

DA	Degré d'acétylation
DD	degré Desacétylation
MES	matières en suspension
MP	poids moléculaire
RMN	résonance magnétique nucléaire
CHOS	Les chitooligosaccharides
PAL	phénylalanine ammonia-lyase
TAL	tyrosine ammonia-lyase
EDTA	acide tétraacétique de diamine d'éthylène
CMC	carboxyméthylchitosane
HEM	hydroxyéthylméthacrylate
NFD	antidépresseur nifidine
IM	indométacine
UV	ultra violé
IR	infrarouge
DCO	demande chimique en oxygène
MM	Masse molaire
RX	rayon X

Introduction

Introduction:

Notre civilisation a pris progressivement conscience que notre modèle de développement économique implique l'utilisation massive de ressources renouvelable comme coproduit marin pour éviter des impacts immédiats de la pollution sur l'environnement et pour plusieurs utilité à différent domaines précises.

D'une manière générale, ce qui peut accélérer la recherche d'alternatives à ces matériaux synthétiques, cette interdiction de certaines de leurs utilisations comme c'est le cas par exemple des sacs plastiques. Il existe une recherche active visant à produire des matériaux plus respectueux de l'environnement et de notre santé. Parmi les matières premières bon marché, renouvelables et non nocives pour l'environnement, on peut citer les matériaux issus de ressources marines, en particulier la chitine et son principal dérivé, le chitosane ; Ces bio- polymères satisfont aux exigences développement durable car ils diminuent la dépendance à l'égard des combustibles fossiles et sont facilement biodégradables.

La chitine et le chitosane ont des applications étendues et très diverses comme dans industries alimentation, de textile et de produits de beauté, en plus des applications environnementales et biomédicales

La chitine et chitosane présentent de nombreuses propriétés physiques, chimiques et biologiques. de nombreuse travaux scientifique transdisciplinaire ont été conduits sur la chitine , et surtout sur la chitosane , depuis une vingtaine d'années .le nombre important de brevet déposés dans le secteurs économiquement porteurs comme les industries cosmétique , pharmaceutiques, biomédicales ou alimentaires ,démontré une recherche très innovante. Il faut respecter pratiquement toutes les applications du chitosane sont liées a son caractères polycationique qui est unique parmi les polymères naturels, et à sa grande versatilité (qui permet par exemple des conditionnements très différents).

L'objectif de ce travail l'étude des biopolymères (chitine et chitineux) qu'ils sont utilisés dans une multitude d'applications pharmaceutique et cosmétique et biomédical et les avantages de leur utilité qui résume par :

- ❖ La première partie de ce travail présente des généralités sur la chitine et lechitosane qui est intitulé :
 - Propriétés physico-chimiques
 - Modification de la chitine et chitosane

- Seconde partie intitulé :
 - la caractérisation de la chitine et du chitosane
 - Principales « d'applications » de la chitine et du chitosane

Les applications de la chitine et le chitosane ont également fait d'immenses progrès au cours du dernier siècle. L'évolution des connaissances pharmaceutiques, cosmétiques et biomédicales a donné naissance à une nouvelle branche de la médecine, la pharmacologie. La découverte de nouvelles applications a permis de traiter de façon plus efficace, voire même de guérir plusieurs maladies longtemps jugées incurables. Cette Note économique retrace quelques-unes des plus importantes contributions du domaine pharmaceutique et cosmétique ayant marqué le dernier siècle.

Chapitre I

1 Définition générale

La chitine est le polysaccharide naturel le plus important dans la nature après la cellulose (1). Est un polysaccharide linéaire formé d'unités de N-acétyl-glucosamines liées entre elle par des liens glycosidiques de type β , (1 \rightarrow 4). (Figure 1) (2)

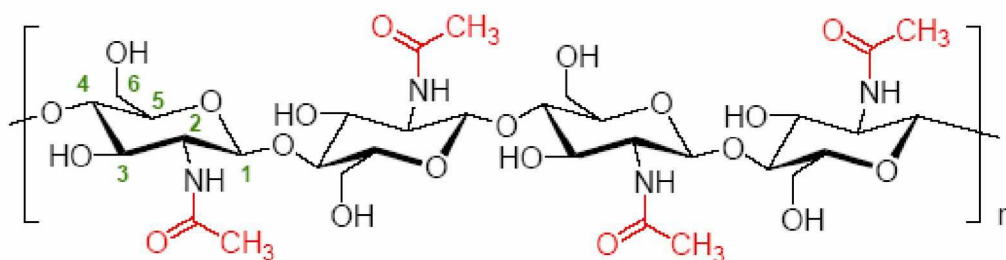


Figure 1 : Structure chimique de la chitine (3)

Le chitosane est un polysaccharide provenant de la désacétylation de la chitine, un composé grandement similaire à la cellulose. Le terme chitosane, loin de répondre à une seule et unique structure chimique bien définie, s'adresse à toute une famille de copolymères linéaires à arrangement aléatoire d'unités N - acétyl - D - glucosamine et de D - glucosamine en proportions variables (figure 2) (4), et liées entre elles par des Liaisons β (1- 4) qui confèrent au chitosane de bonnes caractéristiques filmogènes (5).

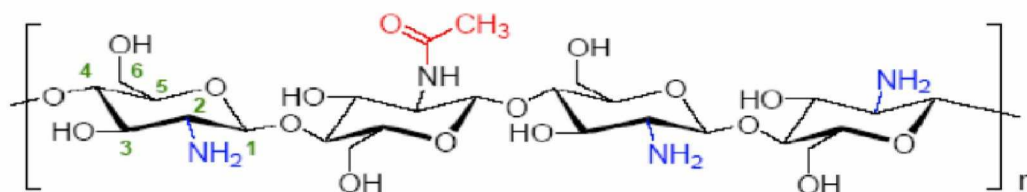


Figure 2: structure chimique du chitosane (3)

Le chitosane a trois types de groupes fonctionnels réactifs, un groupement amine et deux groupements hydroxyles en positions C₂, C₃ et C₆ respectivement (Figure 2). Grâce à ses groupements amines libres, ce composé possède des propriétés intéressantes très différentes de celles de la chitine. Le chitosane, soluble dans les acides faibles, possède une charge positive alors que la plupart des polysaccharides sont chargés négativement (6).

2 Source de la chitine et chitosane

La Chitine

Elle est présentée principalement dans les coquilles de Mollusques, dans les cuticules des insectes et dans la carapace de crustacés. Associée à des protéines, la chitine a contribué à la cohésion des différentes couches qui constituent la coquille des mollusques ou la carapace des arthropodes (7).

Ce polymère se trouve également dans la paroi de la plupart des champignons Et dans certaine algue chlorophycées, levure et bactérie, en plus de son rôle dans le maintien de la rigidité de la cellule, elle contribue au contrôle de la pression osmotique (7)

Le Chitosane

Le chitosane est un polysaccharide provenant de la désacétylation de la chitine, un composé grandement similaire à la cellulose. On retrouve la chitine dans plusieurs écosystèmes puisqu'elle est une composante fondamentale de l'exosquelette des invertébrés marins (crabe, crevette, homard, etc.) et des insectes, en plus d'être une molécule structurante chez les champignons et les levures (8).

3 Propriétés physico-chimiques de la chitine et du chitosane :

Poids moléculaire

Le chitosane est un polymères qui peut atteindre des poids moléculaires (PM) élevés, atteignant jusqu'à 1-3 Mda dans le cas des produits obtenus par des processus contrôlés d'extraction et de désacétylation. Dans le cas du chitosane commercial pour des applications dans le domaine du traitement des eaux le poids moléculaire est généralement plus faible (compris entre 100 et 500 KDa) (9).

Viscosité

Pour connaître la viscosité, il existe différentes méthodes. La plus employée étant la viscosimétrie, en utilisant la relation de Mark-Houwink et Sakurada dont il est nécessaire de connaître les paramètres K et a :

$$[\eta] = K.M^a$$

Ou :

[η] : viscosité intrinsèque ;

K et a sont des constantes ;

M : poids moléculaire (daltons).

Selon le solvant employé, le pH, le DDA, la température et la concentration de chitosane dissout, les constantes K et a ont différentes valeurs (10). Dans des conditions bien définies, il est possible de déterminer la masse moléculaire moyenne du chitosane par calcul de M absolu dans l'équation de *Mark-Houwink et Sakurada* (11) et (10). Ces méthodes présentent certains problèmes.

En effet, la présence possible de microgels ou d'agrégats favorisés par les liaisons hydrogènes, des variations dans la force ionique, l'influence du vieillissement des solutions et des effets électrostatiques (dus aux charges des groupes amines protons) induisent des erreurs de calculs (10).

Degré de Desacétylation (DDA)

De nombreuses méthodes sont proposées afin de déterminer le DDA :

Sur des échantillons solides :

- ❖ La spectroscopie IR (12) ;
- ❖ L'analyse élémentaire (10) ;
- ❖ La RMN solide (13) ;

Sur des échantillons en solution :

- ❖ Dosage UV (14)
- ❖ Titrage colloïdal (12)
- ❖ RMN Liquide(15)

La chitine est soluble très peu de solvants. Sa masse molaire initiale est de l'ordre de 800 000 à 10^6 g.mol⁻¹(16) et elle est généralement fortement acétylée. Les chitosanes obtenus industriellement ont une masse molaire de l'ordre de 200 000 g.mol⁻¹ et un DDA allant de 75 à 98 % (16). Pour le chitosane, la masse molaire de désacétylation utilisée. De plus, un enchaînement successif de plusieurs motifs N-acétylés confère au polymère un caractère plus hydrophobe, et donc des propriétés auto associatives (propriétés épaississantes et gélifiantes) et modifie sa solubilité(2).

En raison de sa solubilisation en solution acide, le chitosane se comporte comme un polyélectrolyte cationique de forte densité de charge (2). Ses propriétés dépendent du pH du milieu. Le chitosane est solubilisé et il devient cationique quand le pH est inférieur au pKa intrinsèque de la fonction amine du chitosane soit. A un pH supérieur (6,5), les groupements ne sont plus ionisés et le chitosane précipite. Autour de pH 6 (17), le nombre de fonctions amines libres devient suffisamment élevé pour induire une association des chaînes et la précipitation du polymère (2). La viscosité du chitosane en solution est

influencée par différents facteurs, comme le DDA, la masse molaire, la concentration, la force ionique, le pH et la température (18).

3 Modification de la chitine et du chitosane

L'une des difficultés majeurs pour la valorisation de la chitine est celle de sa mise en œuvre liée à la difficulté de mise en solution (19,20,21). c'est pourquoi de nombreux dérivés ont été préparés comme le chitosane, qui est son dérivé le plus simple et le plus étudié, ou la carboxyméthylchitine, un dérivé synthétique obtenu par modification chimique (figure : 03)

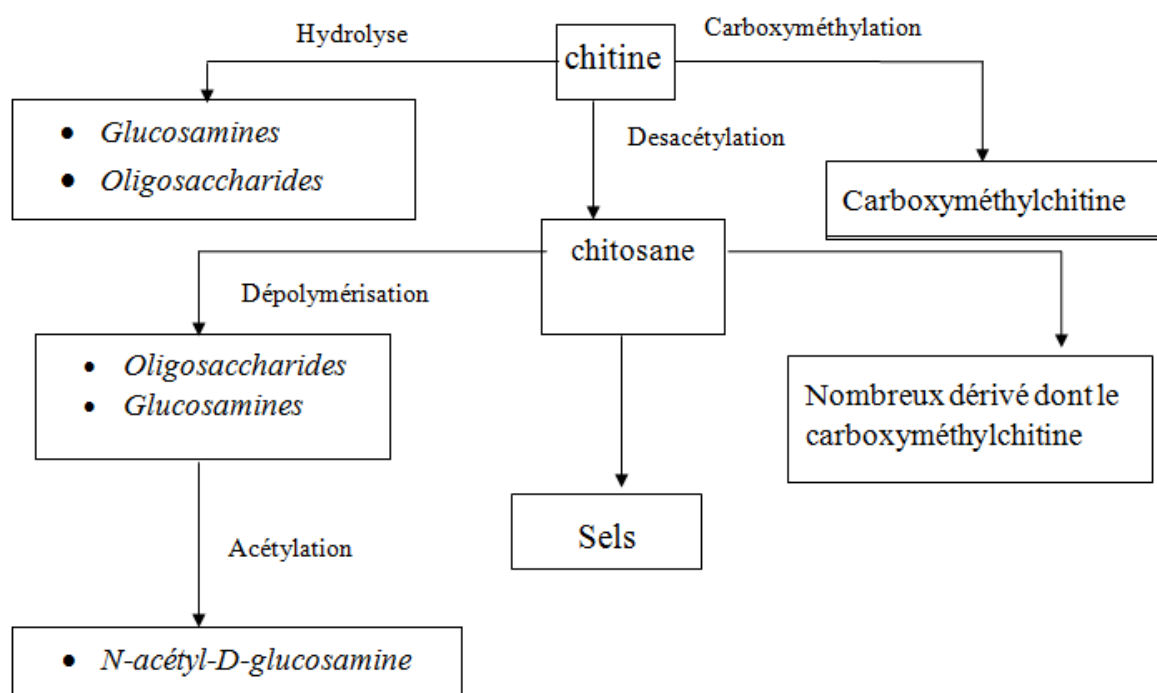


Figure 3 : principaux dérivés de la chitine(22)

Une caractéristique importante des polysaccharides est, en effet, leur bonne réactivité chimique, due la présence d'un nombre de groupes fonctionnels réactifs (hydroxyle, amine ou acétamide). Ces groupes permettent des réactions de substitution ou de modification chimiques qui donnent de nouveaux polymères et des structures macromoléculaires plus ou moins organisées. Actuellement, la chitine et le chitosane font l'objet de nombreuses études concernant leur dépolymérisation. Cette étape de dépolymérisation qui permet obtenir de nouveaux dérivés, notamment des oligomères, peut

se faire par différentes voies (tableau : 01). Le challenge réside alors de le contrôle des unités glucosamines (ou acétylglucosamine) formées.

Tableau 1 : les trois principales voies permettant de dépolymérisation des chaînes de chitine et de chitosane(22)

<p>Voie chimique</p> <ul style="list-style-type: none">➤ Utilisation d'acides (HCl, NH_3)➤ Radicaux libres /oxydation (H_2O_2, K S O) <p>Voie physique</p> <ul style="list-style-type: none">➤ Utilisation de radiation (UV,)➤ Ultrasons➤ Micro-ondes➤ Traitements thermique <p>Voie enzymatique</p> <ul style="list-style-type: none">➤ Utilisation d'enzymes spécifique (chitinase,chitosanase)➤ Utilisation d'enzymes non-spécifiques (lipase, protéase, lysosome)
--

Le chitosane se distingue de la cellulose par le fait que c'est un matériau beaucoup plus versatile et pouvant être modifié facilement, il offre la possibilité de produire différentes formes physiques comme des solutions ou des lyophilisats, des « billes » de chitosane (hydrogels, particules, microsphères, nanoparticules), des fibres, des films ou encore des membranes (figure :04), Ces différentes formes sont très utiles lorsqu'on envisage des applications spécifiques comme dans le domaine biomédical. De plus, cette versatilité est très intéressante car, lorsque l'on veut utiliser le chitosane, il faut, en effet, tenir compte de deux caractéristiques : d'une part, le polymère n'est soluble qu'en milieu acide il est inefficace pour interagir ou adsorber des molécules cationiques (basiques) du fait de sa polycationicité. Pour pallier à ces inconvénients, de nombreux auteurs suggèrent de le modifier (23,24). La présence de la fonction amine le long de la chaîne macromoléculaire en position C-2, permet, au contraire de la cellulose, de réaliser des réactions chimiques régio-sélectives et spécifiques à cette fonction telles que la N-alkylation ou la N-carboxylation. De plus, Ces réactions permettent de moduler ses propriétés physico-chimiques (stabilité chimique et thermique, rhéologie, viscoélasticité....) Et d'apporter de nouvelles propriétés (propriétés amphiphiles...). De nombreux dérivés ont été ainsi préparés soit par voie physique, en créant de nouveaux conditionnements, soit par voie chimique par greffage de groupements fonctionnels spécifiques (25,26)

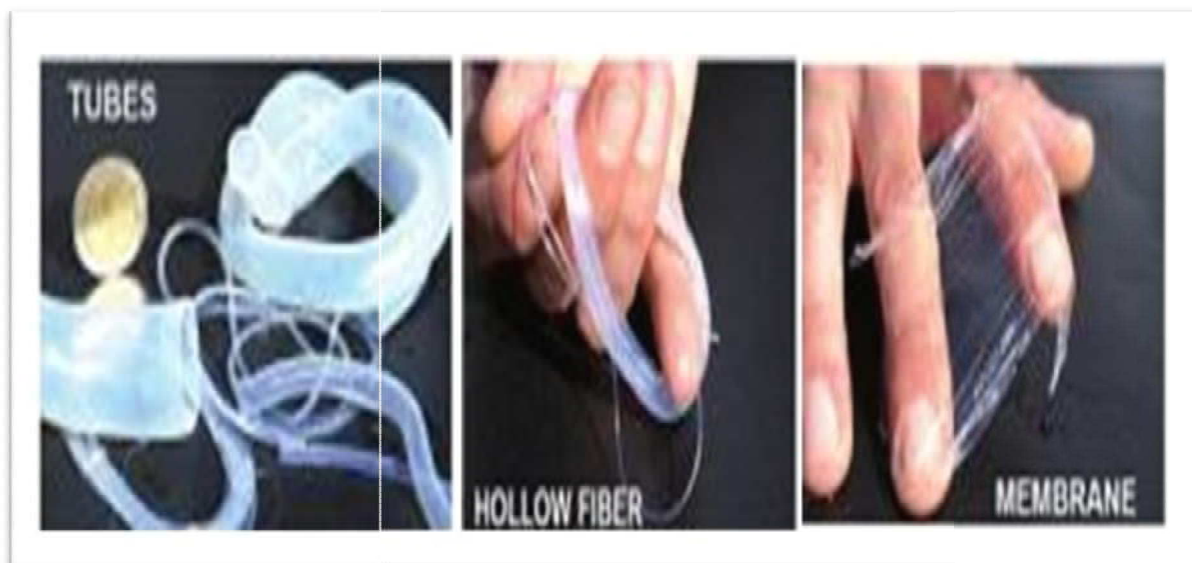


Figure 4 : quelque exemple de conditionnements du chitosane (22)

La modification chimique du chitosane permet également obtenir des superstructures macromoléculaires intéressantes incluant des billes réticulées, des résines modifiées ou encore des matériaux composites . Les méthodes de modification sont classées entre deux grandes catégories : la première à consiste greffer le chitosane sur un support insoluble (matrice minérale ou organique) par greffage chimique ou radiochimique ; la seconde utilise des réactions de réticulation en présence d'agents réticulant. L'étape de réticulation une structure réticulée grâce à utilisation d'agent de pontage qui permettent de relier les chaînes entre elles et de créer ainsi un réseau macromoléculaire traditionnels plus ou moins réticulé mais irréversible .les réseaux obtenus se présentent sous la forme de particules dont les propriétés dépendent essentiellement de la densité de la réticulation .les agents réticulant utilisés sont les dérivés aldéhydiques(formol,glutaraldéhyde)et les agents époxy (épichlorhydrine ,éthyléneglycol diglycidyl éther) , mais l'agent le plus employé reste le glutaraldéhyde(27) .

Le greffage chimique de groupement fonctionnels sur le biopolymères répond à plusieurs objectifs, souvent complémentaires, comme par exemple la modification de la solubilité (les dérivés de la chitine deviennent solubles dans l'eau) ; la modification des propriétés hydrophiles /hydrophobes pour apporter un caractère amphiphiles ; la modification des MM et la préparation d'oligomères).Ces modification correspondent à la volonté d'étendre le champ d'application de ces biopolymères .

3-1 Les propriétés particulières du chitosane

Sont liées essentiellement à la présence de la fonction amine porté par le carbone 2. Elles sont de deux types :

A pH acide, ou il est soluble, le chitose porte de nombreuse charges positives. il est donc un bon agent de floculation et un bon agent de coagulation (21).il peut interagir avec des molécules chargées négativement (par exemple acide gras, protéines et argiles)

(Fang et al ., 2001) et former ainsi des complexes polyanion- polycation , cette propriété lui ouvre de multiples applications notamment en dermo- cosmétologie : elle permet interagir de façon très intime avec les Kératines de la peau et ainsi former un film a la surface de celle-ci .

à pH (> 6,5) le chitosane perd ses charges positives, le doublet électronique de l'azote Est libre, ces doublet libres et présence de nombreux atomes d'oxygène dans le chitosane lui permettent de se comporter comme un excellent complexant, en particulier des métaux lourd, il donc utilisé pour la purification de l'eau,

Par exemple pour la récupération de métaux dans les effluents industriels.

La chitine est hydrolysée par les lysozymes ce qui n'est pas le cas de chitosane, celui- ci peut alors transiter sans adsorption dans tout l'appareil digestif, il donc utilisé comme ballast pour le transit intestinal et pour son activité hypocholestérolémiant.

3-2 l'importance du degré désacétylation

Pour obtenir le degré désacétylation total, il conviendrait de procéder à une série de traitements successifs avec le risque de voir diminuer de manière dramatique la MM du polymère. Une autre possibilité est d'opérer en conditions contrôles limitant les mécanismes d'oxydation. Ceci restreinte l'utilisation à la synthèse de chitosane pour des applications très spécifiques à forte valeur ajoutée dans les domaines biomédical ,pharmaceutique ou cosmétique .Hors de ces applications spécifiques ,l'utilisateur recherche du chitosane à moindre cout avec comme corollaire une désacétylation incomplète.

Le paramètre DD est extrêmement important car il influence les propriétés des chaines macromoléculaires des polymères et leur comportement en solution (28-34), à savoir :

- La solubilité de chitosane
- La flexibilité des chaines macromoléculaires
- La conformation du polymère
- Et donc la viscosité des solutions

Le DD peut être déterminé par analyse élimination (analyse du % d'azote) par titrages potentiométriques ou conductimétriques , par diffraction de RX , par spectrophométries infrarouge à transformée de Fourier et UV , ou encore par résonance magnétique nucléaire (RMN) liquide ou solide (essentiellement proton 1H et carbone 13C ,azote 15N). La technique d'infrarouge est la plus adaptée pour une caractérisation rapide et simple, et la

technique RMN la plus précise, dès lors que le polymère est parfaitement soluble dans l'eau deutériée en présence d'acide chlorhydrique par exemple (21)

3-3 Conditionnement des matériaux

La solubilité du chitosane en milieu d'acide permet de décliner le chitosane sous différentes formes comme indique dans la figure : 2. Cependant, la neutre physique du matériau dépend en générale de son utilisation (tableau 2) (35).Le chitosane sera ainsi utilisé :

- a) sous forme liquide dans des formulations de principes actifs thérapeutiques ou de facteurs de croissance,
- b) sous forme de particules (microsphères ,nanoparticules) pour préparer des médicaments ou immobiliser des enzymes (36),
- c) sous forme de fibres pour préparer des tissus biologiques (20)
- d) sous forme semi-solides (hydrogels) pour préparer des crèmes
- e) ou encore sous forme d'objet façonnés (lentilles de contact ou prothèses Orthopédique) (35)

Tableau 2 : Usage potentiel pour plusieurs formes de chitine
Et de chitosane (35)

Billes /particules	Coatings
<ul style="list-style-type: none"> • chélation de métaux • traitement de l'eau • relargage de médicaments • immobilisation d'enzymes • alimentation animale 	modifications de surfaces textile papeterie
Fibres	films
<ul style="list-style-type: none"> • Tissus médicaux • Fils sutures 	membranes emballages Cicatrisants
Solutions/Gels	objets façonnés
<ul style="list-style-type: none"> • Cosmétique • Agent flocculant 	lentilles orthopédie Prothèses

Chapitre II

I- CARACTERISATION DE LA CARAPACE DE CERVETTES BROYEES

Dans le tableau 7, nous avons rassemblé les valeurs obtenus pour le taux en cendres contenues, l'humidité et le taux en lipide.

Tableau 3: tableau représente les différentes valeurs obtenues

Paramètre	Matière humide
Taux de cendre (%)	45,54
Humidité (%)	7,12
Taux de lipide	1,6

II – CINETIQUE DE DEPROTENEISATION DE LA CHITINE

La cinétique de déprotéinisation de la chitine a été suivi par l'analyse de l'azote en utilisant la balance analytique. Nous constatons que la déprotéinisation dépend de la contraction de la soude, de la durée de contact et de la puissance des micro-ondes.

Il est à noté que la cinétique est très rapide qui est due à l'effet des micro-ondes.

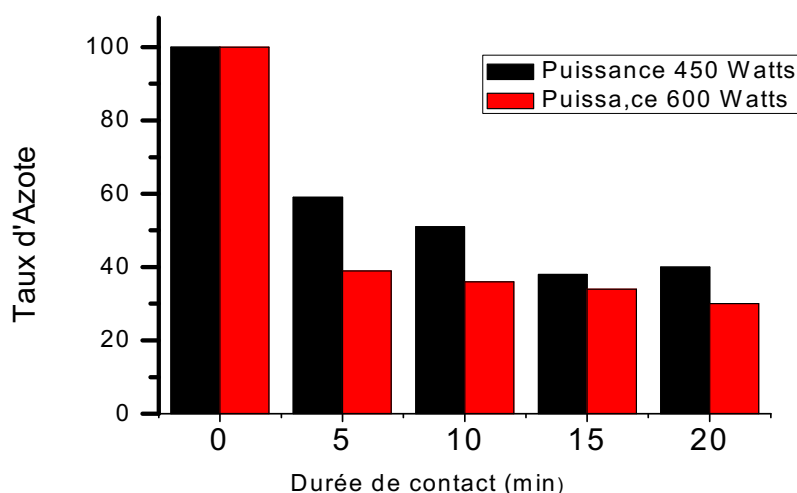


Figure 5 : taux d'élimination de l'azote pour une concentration de NaOH 1.5 N à deux puissances 450 Watts et 600 Watts.

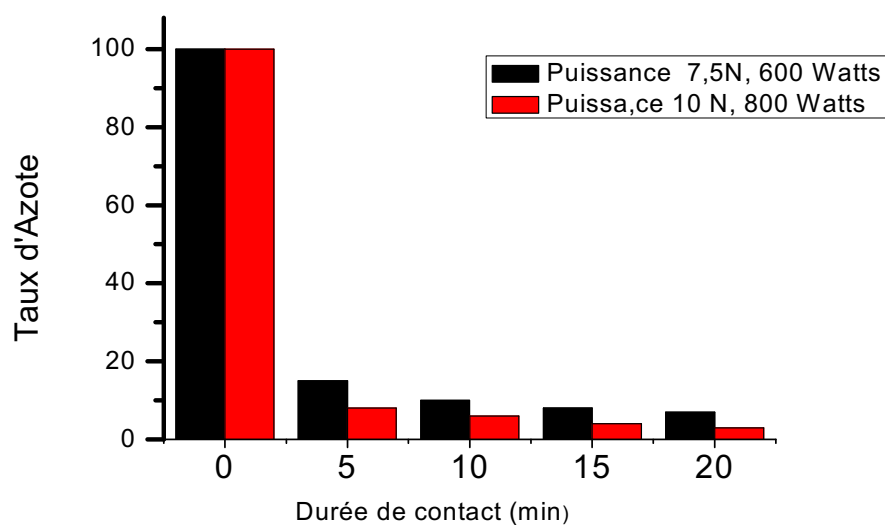


Figure 6 : taux d'élimination de l'azote pour deux concentrations de NaOH 7.5 N et 10N à deux puissances 450 Watts et 600 Watts.

III - CARACTERISATION DU CHITOSANE

III-1 Caractérisation par Microscopie Electronique à Balayage

Les images de la figure montrent la morphologie du chitosane à différents agrandissements. La morphologie du chitosane est formée de feuillets déposés les uns sur les autres.

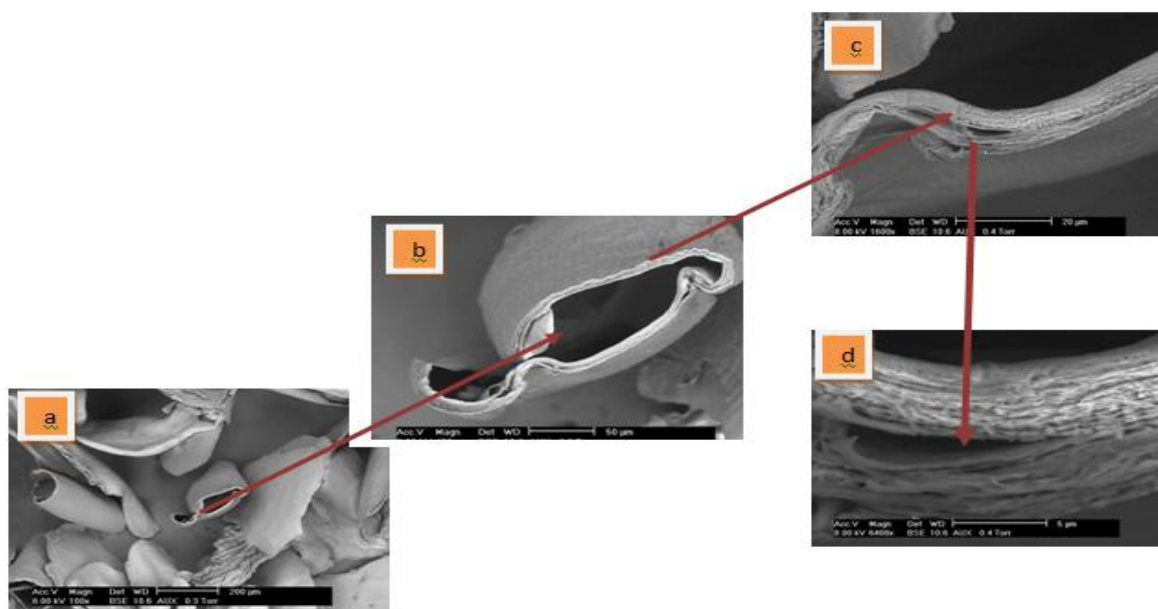


Figure 7 : Observation par MEB de l'échantillon du chitosane à différents agrandissements.

L'observation MEB (figure 20) montre que le chitosane est constitué des pores réguliers. Ils sont situés sur des plans superposés et permettent de distinguer des perforations perpendiculaires qui constituent des ouvertures traversées par des canaux. À cause de son aspect, cette structure est appelée « nids d'abeilles »). Les canaux sont formés de fibres composés de biopolymères.

III-2- Caractérisation par diffractométrie aux RX

La figure représente deux diffractogrammes du chitosane obtenu par extraction assistée par les micro-ondes pour deux puissances.

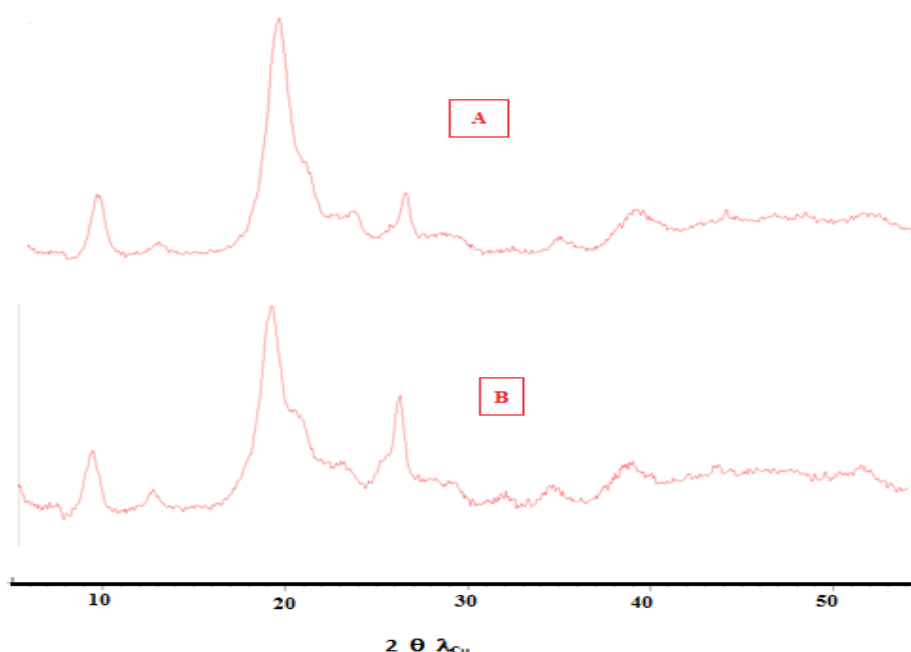


Figure 8: diffractogramme des RX des chitosanes préparés

Nous constatons que le chitosane diffracte les RX et donne l'objet à plusieurs raies caractéristiques du produit cristalline pures. Globalement, les diffractogrammes sont caractérisés par 05 raies à 9° , $12,5^\circ$, 19° , 21° et 26° correspondantes aux distances interitculaires 20, 110, 120, 101 et 130 . Ces résultats sont conformes aux travaux de Zhang *et al.*, (Zhang *et al.*, 2005).

Selon Gardner et Blackwell (Gardner et Blackwell, 1975), le degré de cristanillité ou indice de cristallinité de la chitine et du biopolymère du chitosane est donné par la relation suivante :

$$(\%) \text{ IC} = ((I_2 - I_1) / I_2) \times 100$$

Où :

- IC : Indice de c
- I_2 : Intensité de la raie à 19°
- I_1 : Intensité de la raie à 9°

Tableau 4 : Indice de cristallinité des chitosanes préparés.

	Chitosane A	Chitosane B
Indice de cristallinité (IC)	54,17	47,63

III-3 Caractérisation par spectroscopie Infra Rouge à Transformée de Fourier

Cette méthode de caractérisation du chitosane par IR est basée sur la relation entre la valeur de l'absorbance (A) de l'amide primaire à 1 655 cm⁻¹ et celle de l'hydroxyle à 3 450 cm⁻¹. Le degré de désacetylation (DD) a été calculé par l'équation (BAXTER *et al.*, 1992; KHAN *et al.*, 2002; TOKURA et NISHI, 1994).

$$\text{DD}\% = 100 - \left[\left(\frac{A_{1655}}{A_{3450}} \right) * 115 \right]$$

La figure montre un spectre type d'IR d'un chitosane préparé à la concentration de NaOH 10 N à une puissance de 800 Watts.

L'attribution de principales bandes pour cet échantillon est donnée par le tableau 9.

Tableau 5 : principaux bandes IR caractéristiques du chitosane préparé.

Bandes, cm ⁻¹	Attribution
3446, 3265	vOH et vNH
2962, 2926, 2885	vC-H
1660	vC=O

1560, 1625	δ N-H
1421	ν C-H
1378, 1317	ν CH ₃ et ν CH ₂
1259, 1203	Aucune attribution
1115	ν C-O-C
1027, 1072	ν C-OH

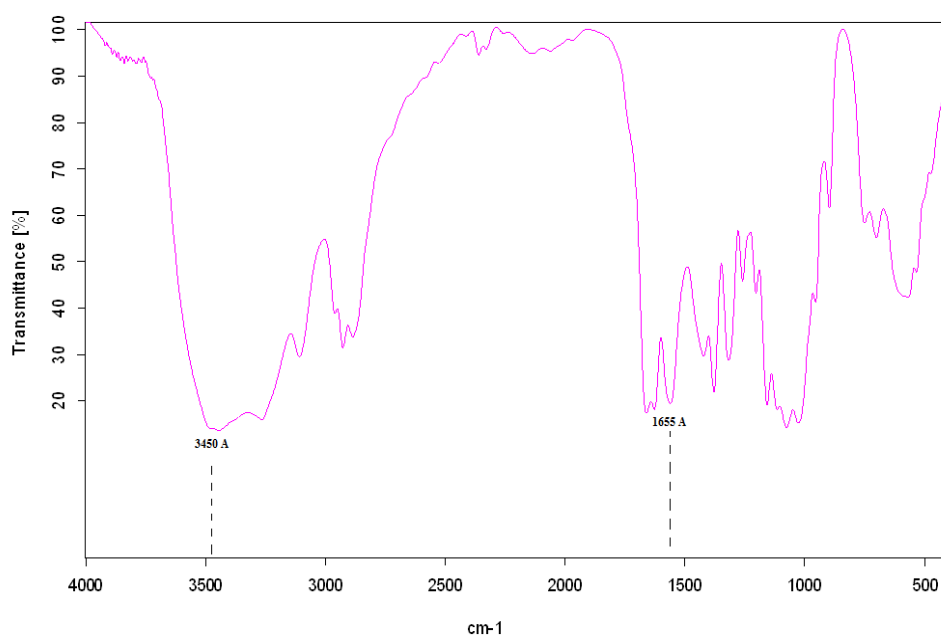


Figure 9 : spectre IR de du chitosane préparé avec du NaOH 10N à une puissance 800Watts

Sur la figure (22), nous avons représenté le degré de désacétylation de la chitine en fonction de la durée de contact pour deux concentrations de NaOH différentes (7,5 N et 10N).

Nous constatons que le degré de désacétylation dépend de la concentration de NaOH et de la durée de contact. On peut affirmer que, plus la concentration est élevée, plus le DD est important, atteignant 90 %. De plus, il est important de noter que les micro-ondes ont comme effet d'augmenter la cinétique de désacétylation.

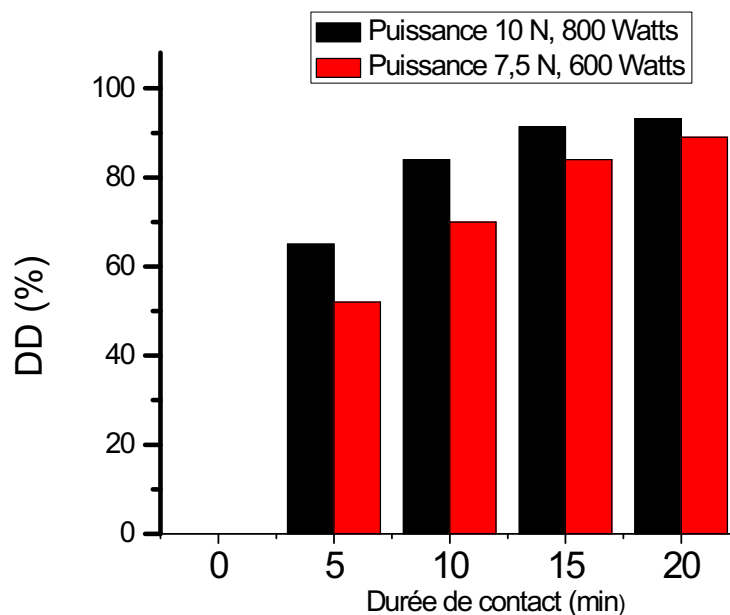


Figure 10 : Evolution du degré de désacétylation en fonction de la durée de contact.

IV-PRINCIPALES APPLICATIONS DE LA CHITINE ET DU CHITOSANE

La chitine et surtout le chitosane trouvent des applications importantes dans différents domaines (20,37,38,39,40) en raison de leur nombreuses et déverses propriétés que nous venons d'énumérer. En pratique, toutes les applications de chitosane sont intimement liées à son caractère polycationique qui est unique parmi les polymères naturels. De nombreux brevets internationaux sur l'utilisation de la chitine et du chitosane ont été ainsi déposés ces dernières années dans des secteurs économiquement porteurs comme les industries cosmétiques, biomédicales ou alimentaire (38). On dénombre actuellement plus de 2000 applications concrètes, c'est le domaine de la diététique qui utilise le plus de chitosane avec 1000 tonnes consommées en 2000 dans le monde. Il existe actuellement au marché industriel porteur auteur de la production de biopolymères à base de chitosane d'origine non animal (à partir de champignons) de haute pureté, reproductible, hypoallergéniques, particulièrement utilisés dans le domaine médical, ingénierie cellulaire, cicatrisation des plaies, support de culture, thérapie génique, cancérologie, ophtalmologie... au niveau fondamental, Ce sont des membranes et les nanomatériaux à base de chitosane qui suscitent actuellement de nombreuses recherches (20).

IV-1 Domaine biomédical et pharmaceutique

L'utilisation thérapeutique de chitosane est très récente (38,39). Jusqu'à présent, les usages industriels de ces matériaux étaient, en effet, limités à certains industries (les cosmétique par exemple). Il semble que le chitosane soit en voie de trouver son utilité en

médecine classique notamment comme « véhicule » de médicament et d'autre substance thérapeutique ,et en médecine régénératrice (chirurgie reconstructrice par exemple). Il faut noter que le chitosane ultrapur utilisé dans ses domaines a un cout très élevée(20,41).

Les propriétés biologiques et biocompatibilité et de bioactivité de la chitine et du chitosane permettent de nombreuse applications pharmaceutiques, biomédicales, et cliniques (tableau 3) (42).la non toxicité du chitosane est illustrée par une dose limite administrable de 17g /kg par jour. Sa biocompatibilité se traduit par son hémocompatibilité et sa faible antigénicité. l'hémocompatibilité du chitosane se manifeste par son caractère antithrombogène . Il trouve de ce fait des applications en tant que revêtement d'objet mis en contact avec le sang comme les prothèses vasculaires ou les valves cardiaque (43).

IV-1-1 L'activité cicatrisante

Le rôle du chitosan est avéré dans la réparation tissulaire de l'épiderme (44) et la cicatrisation (45). De ce fait, le chitosan est utilisé pour fabriquer des pansements et des bandages (46). Par exemple, un mélange de chitosan et oxychitine est commercialisé comme agent de recouvrement pour les greffes, le HemCon® Bandage. Le degré de désacétylation augmentant, les performances de cicatrisation sont améliorée (47).

Zarzycki et Modrzejewska (48) ont montré que chitosane peut être utilisé pour fabriquer des organes ou des tissus artificiels, notamment en raison de son potentiel anti-thrombose. Le chitosane accélère la cicatrisation de plaies (activité bio-stimulante) car le chitosane, comme la chitine, favorise une réduction de la synthèse de collagène indésirable, une augmentation du nombre d'histiocytes, une stimulation des fibroblastes qui produisent une quantité abondante de collagène-3, indispensable dans les phénomènes de cicatrisation. Ces propriétés cicatrisantes sont également utilisées pour fabriquer des fils de structure et dispositifs chirurgicaux utilisé comme pansements lors d'opération ou de peaux artificiels utilisable, par exemple, dans le traitement des grands brûlés(Figure 11) (39).



Figure 11 : Représentation de la peau brûlée à l'état grave(49)

Le collagène est une glycoprotéine fibreuse qui constitue notre tissu, se trouve dans de nombreuses parties du corps, et possède des propriétés intéressantes. 15 à 20% de notre corps est fait de collagène. Il a été connu depuis de nombreuses années que la prise de collagène améliore l'hydratation de la peau et la souplesse, c'est à dire qu'il a une action anti-rides car elle réduit leur profondeur. Utilisation de l'hydrolysat de collagène a été commune depuis longtemps au Japon et en Asie, où les solutions de collagène sont prises par des millions de femmes. Des études cliniques ont montré que l'absorption de 10 g par jour d'hydrolysat de collagène de la peau affecte de façon prometteuse. Il est plus hydraté, à moins de rides profondes et est plus souple)(49).

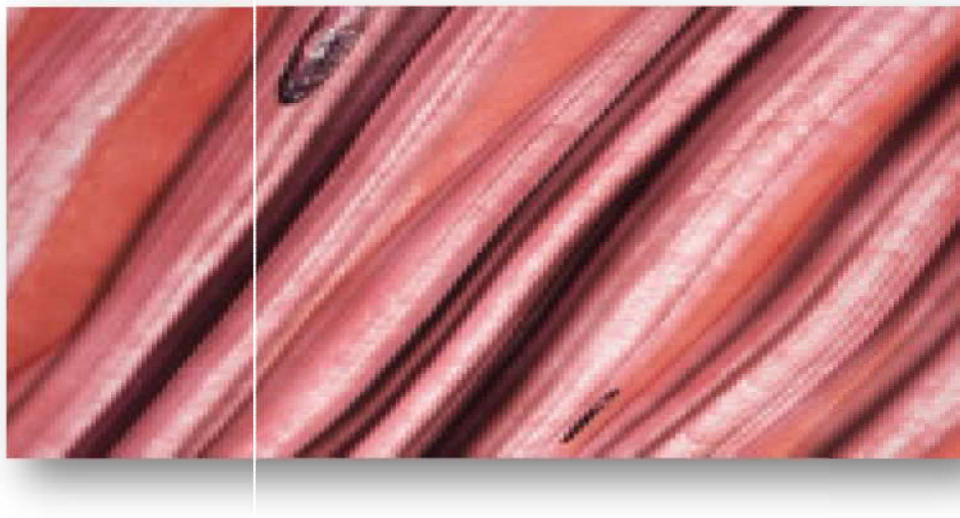


Figure 12: représentation tissu conjonctif de collagène (49)

Il semble que cette peau aux propriétés analgésique permette une cicatrisation des brûlures et une reconstitution de l'épiderme beaucoup plus rapide et de façon moins douloureuse qu'avec avec les produits utilisés conventionnellement. En outre, cette peau ne représenterait aucun risque de rejet. A la fois perméable à l'air, hydratante, cicatrisante et bactériostatique, elle se résorbera au bout d'un certain temps. A noter que ces peaux artificielles sont beaucoup moins chères que celles employées jusqu'à présent.

Des études récentes tendent à montrer que le chitosane exerce un effet bénéfique sur le renforcement du système immunitaire, le contrôle du niveau de phénomène de vieillissement (108,98). Le chitosane diminue les risques d'hypertension et de cancer tout en stimulant les fonctions hépatique et immunitaire et en régulant le transit intestinal. C'est aussi un agent antifongique et bactériostatique, at. un spermicide efficace qui offre de bonnes conditions d'asepsie. A travers son pouvoir immunologique, il peut également stimuler les cellules impliquées dans les défenses immunitaire vis-à-vis des cellules tumorales et des agents pathogènes. Des exemples promoteurs dans le traitement

des ulcères variqueux et en chimiothérapie ont également été décrits par Fukumori et al. (31). Le chitosane est utilisé pour améliorer l'adsorption de certains médicaments administrés par voie oculaire ou nasale (50,51), en parodontie (rinçage-bouche), en chirurgie plastique (pansement) (52) ainsi que pour le traitement de l'insuffisance rénale en traitement d'appoint (50,53), il est également utilisé en chirurgie régénératrice en tant que substitut de cartilage, osseux ou encore dans les systèmes vasculaires et rétinien (54). Comme le chitosane se transforme en glucosamine dans l'organisme, on explore son utilisation sous forme d'injection dans le genou pour stimuler la réparation du cartilage. En effet, les techniques chirurgicales de réparation du cartilage endommagé nécessitent la formation d'un caillot sanguin au niveau des lésions. L'incorporation du chitosane dans le sang liquide permet d'obtenir un caillot sanguin adhérent et plus stable, ce qui permet une meilleure réparation du cartilage grâce à cet implant chitosane-sang. Le glucosamine est réputée pour ses effets anti-douleur, anti-inflammatoire et pour prévenir la détérioration des articulations. Les dérivés à base de chitosane (précurseurs de glucosamine) assurent une libération progressive qui permet de réduire les doses et par là, d'augmenter le confort du patient. La lecture intéressée pourra utilement consulter les références (20, 38,39, 43,55). Pour trouver d'autres applications biomédicales de la chitine et du chitosane. Les polysaccharides présentent des potentialités intéressantes dans la vectorisation de médicaments c'est-à-dire la capacité d'encapsuler les principes actifs dans des biopolymères pour favoriser leur libération progressive et contrôlée (56, 57, 58,59). Les hydrogels du chitosane ont des caractéristiques adéquates pour remplir cette fonction. Ces assemblages sont des systèmes supra moléculaires organisés qui reposent sur des liaisons chimiques de faible énergie (liaison hydrogène, forces électrostatiques, liaison de van der Waals, interactions hydrophobes). De nombreuses informations sur la synthèse et les propriétés de ces gels peuvent être trouvées dans les revues de Berger et al. (59), et Agnihotri et al. (58). On distingue trois types de réseaux d'hydrogels macromoléculaires selon leur mode de libération du principe actif :

- a) Les microsphères d'hydrogels à diffusion contrôlée qui arrivent sous forme sèche dans l'organisme et qui se gonflent d'eau en contact des fluides biologiques,
- b) Les systèmes dits « à érosion » : la substance active dispersée dans le biopolymère est libérée au fur et à mesure de la destruction enzymatique du réseau,
- c) Les hydrogels à réseau non covalents sensibles dits « intelligent » qui libèrent la molécule active en réponse à des signaux extérieurs (température, pH, potentiels électrique, force mécanique comme le cisaillement ou la fermeture des paupières pour un gel oculaire).

Dans de nombreuses applications, le chitosane est utilisé sous forme d'hydrogels chargés pour immobiliser des médicaments, des enzymes ou encore des substances thérapeutiques comme les vaccins, les antigènes, ou gènes (56,60,58,20,61). Ces hydrogels sont ainsi utilisés en cancérologie (thérapie angiogénique), en thérapie

génique(transfection),en ingénierie tissulaire (reconstitution des tissus) ou encore en biologie cellulaire(mimer *in vitro* l'environnement *in vivo* des cellules par exemple), quelques exemples sont données ci-après

La confection de microcapsules à base du chitosane peut préserver la substance thérapeutique jusqu'à ce qu'elle atteigne sa cible physiologique(œsophage , estomac ou colon ,notamment) (20,58,61).Kas(62) a montré que les gels de chitosane permettent le transport d'un grand nombre de molécules thérapeutique des plus simples telle la caféine aux plus complexes comme les protéines (BSA par exemple) .Berger et al.(59) ont montré que le chitosane peut produire des matrices à libération contrôlée sous l'effet d'un champs électrique, pour ,par exemple ,des libérations transdermales de médicaments. Des études sont menées sur la mise au point de vaccins qui seraient administrés par voie orale en utilisant cette technique de micro-encapsulation (63,64), les vaccins administrés par voie muqueuse sont, en effet, connus pour leur faible biodisponibilité et ils doivent être Co-administrés avec des substances qui favorisent leur pénétration. Or, le chitosane est efficace pour améliorer l'adsorption au niveau des muqueuses des macromolécules hydrophiles peptidiques et protéiques. il semble que le chitosane représente un adjuvant promoteur pour des vaccins comme l'ont montré Gogev et all.(65). Un autre domaine , dont on parle de plus en plus, est celui de la transfection ou processus de transfert de gènes(pour remplacer un gène manquant par exemple).Il s'agit d'introduire de l'ADN exogène(dit(ADN médicament)dans des cellules (rein, poumon).le vecteur chitosane (macromolécule anionique) ,de toute réaction immunitaire et d'améliorer son efficacité .

IV-1-2 Les applications en soin dentaire ou vétérinaire

Le chitosane intègre des pansements appliqués sur des lésions dues aux infections de la dent. Il constitue un bio-matériel inoffensif, anti-inflammatoire et antimicrobien (66). Des pâtes à mâcher à base de chitosane et CHOS ont également été étudiées, pour ôter les débris alimentaires ingérés. La salive libère les chito-oligomères, activant ainsi leur rôle anti-carie (67).

Le chitosane est utilisé par les vétérinaires comme moyen d'administration, tel que les sprays (application par douche), implant, bain, dispositif intra-mammaires, intra-rumen et intra-utérin. Certains dérivés de la chitine sont indiqués pour favoriser la croissance et stimuler les défenses immunitaires (68).

La chitine et le chitosane sont également utilisés dans les domaines de d'odontologie (implants, gel dentaire)(69),l'ophtalmologie et la médecine vétérinaire (70),Par exemple ,des lentilles de contact à base de chitine ,sans propriétés optique, sont utilisées pour la cicatrisation de cornées endommagées ,la chitine peut également être employée dans les solution de nettoyage et/ou de conservation des lentilles de contact, le chitosane est utilisé en parodontologie car il s'oppose à la formation des caries et de la plaque dentaire ,aux stomatites et aux gingivites .Son incorporation contribue à l'adsorption de calcium, ce qui empêche l'appauvrissement ionique de l'émail ,les propriétés antibactériennes et antivirales de la chitine et du chitosane sont bénéfique aux restauration dentaires et

favorisent la guérison ,Dans les crèmes dentifrices , la chitine garde la pâte à dentifrice saine et revivifie les gencives en mauvais état (69).

IV-1-3 Les applications sur l'abaissement de cholestérol et diététiques

A la frontière entre les domaines pharmaceutique et alimentaire, dans le domaine des «aliments», le chitosane est utilisé comme complément alimentaire et produit diététique car il exerce une activité hypocholestérolémiant (réduction de taux de cholestérol) en piégeant les lipides ce qui favorise leur élimination rapide (39, 71,72). La fibre de chitosane, fibre que l'organisme ne peut assimiler, empêche ainsi l'adsorption de graisse et favorise ainsi la perte de poids (73).Des oligomères de chitosane, peuvent, en effet, fixer environ 15 fois leur propre poids de lipides, les liaisons ne sont pas métabolisées et les graisses ne peuvent être absorbées par l'organisme. L'ensemble « graisse +chitosane » est alors éliminé par voies naturelles. Ce déficit en lipides va alors obliger l'organisme à puiser dans ces réserves. Des études ont montré que le chitosane abaisse le niveau total de cholestérol LDL (« mauvais » cholestérol) et élève le niveau de HDL (« bon »cholestérol) (39). Le chitosane a une capacité à se lier aux acides biliaires au niveau intestinal entraînant une série de mécanismes qui conduit à une diminution du taux de cholestérol dans le sang. Le caractère cationique de chitosane conduit à la mucoadhésivité de ce polymère et à des interactions électrostatiques fortes (complexes électrostatiques) avec les lipides, les mécanismes d'action demeurent encore mal compris .Intègres a des crèmes ou à des pommades, il donne également des propriétés antiseptique et cicatrisantes à ces produits pour la peau, ainsi que des propriétés de régénération cellulaire .En outre ,il sert comme agent stabilisant , modificateur de texture , ou encore comme patch pour délivrer différents substances . De nombreux produits sont commercialisés comme des crèmes antidermatoses , des crèmes régénérantes ,cicatrisantes et anti-âge , ou encore des crèmes amincissantes ou le chitosane peut servir de vecteur .

Le chitosane peut donc piéger le cholestérol apporté par l'alimentation et éviter qu'il ne soit absorbé par la paroi intestinale, Par conséquent, il est de plus en plus introduit dans les produits amaigrissants (73).

IV-1-4 Les applications cosmétiques

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 (74). On le trouve par exemple dans des crèmes antifongiques, amincissantes, hydratantes.

Les produits cosmétiques

Beaucoup d'applications dans le domaine cosmétique reposent sur ces propriétés filmogènes. Des principes actifs peuvent être piégés dans des films ou des billes de chitosan. Ces principes actifs sont libérés au contact de la peau par l'effet de la diminution

du pH. Les produits le plus couramment rencontrés sont des soins pour la peau, contre l'acné et pour les cheveux, notamment pour leur souplesse. Cette application repose sur les propriétés électrostatiques du chitosan (1).

IV-1-5 L'activité antimicrobienne

Le chitosane est antibactérien et antifongique (75,76). Le mécanisme d'action de l'effet anti-microbiologique serait lié à la charge positive du C-2. Cette activité serait favorisée lorsque la solubilité augmente (77). Le mode d'action du chitosane repose sur son interaction avec les membranes des cellules microbiennes. Les bactéries Gram-négatifs, telles qu'E. Coli, paraissent particulièrement concernées. Cette activité semble être favorisée par des degrés de désacétylation élevés(6).

La chitine et le chitosane sont également utilisés comme conservateurs antibactériens dans les préparations cosmétiques. En effet, les utilisations répétées des produits cosmétiques et leur stockage sur une assez longue durée sont à l'origine de contamination du produit par les microorganismes. Ces microorganismes peuvent altérer la qualité du produit cosmétique et son efficacité par des changements de texture, de couleur...ou l'apparition de risques pour la santé. Par rapport aux conservateurs issus de la chimie du pétrole susceptibles de générer des effets secondaires d'allergies, les bio polymères représentent une alternative intéressante comme agent antimicrobiens naturels

IV-1-6 L'activité de chitooligosaccharides

Les chitooligosaccharides (CHOS) sont caractérisés par leur très faible longueur de chaîne, homogène ou hétérogène, d'unité de N-acétylglucosamine ou glucosamine. Selon Zhang et al. (1999)(78), leur DP est compris entre 3 et 10, alors que celui de la chitine peut atteindre 5 000. L'engouement récent pour les CHOS s'explique par leurs propriétés intéressantes pour le domaine médical (79). Depuis les années 1970, leurs activités anti-tumorales et sur la réduction des métastases ont été mises en évidence (73, 80, 81,82). L'action s'appliquerait sur le contrôle de la croissance des vaisseaux sanguins (60, 50,83). Les CHOS seraient également reconnus comme anti-inflammatoires en cas d'asthme (68) et comme anti-ulcère (84). Ils sont aussi connus pour favoriser la régénération osseuse (85, 86, 87) et la minéralisation du tissu osseux (88). Ils sont également utilisés comme vecteurs de gènes (89,90) et comme inhibiteurs de la malaria (89,91,92). Enfin, la glucosamine est largement utilisée pour réduire les douleurs liées à l'inflammation des articulations (93).

IV-1-7 Le rôle de support matériel

L'intérêt pour les nanofibres et nanoparticules à base de chitosan s'accroît en médecine. À base de dérivés tels que la chitine carboxyméthylée et le poly(vinyl alcool) ou associés à des complexes, des matrices pour la bio-ingénierie sont obtenues. Elles peuvent servir pour la diffusion contrôlée et ciblée de principes actifs, et pour la régénération osseuse, de la peau, du foie et de la prostate (94). Le chitosane permet

une libération et une diffusion progressive et contrôlée lorsqu'il est impliqué dans l'encapsulation de molécules actives (56,95,96)

Tableau 6 : applications industrielles de la chitine et du chitosane dans les domaines biomédical et pharmaceutique

Champ d'application	Application
-Médecine -Chirurgie reconstructrice -Chirurgie plastique -Cancérologie -Ingénierie tissulaire Biologie cellulaire	-Accélération de la cicatrisation et de la guérison des blessures -Traitement des lésions émersepolypidermiques -Stimulation de la régénération des tissus (prolifération des cellules) -Matrice pour la régénération osseuse (substitut osseux, substitut de cartilage) ou pour la reconstruction de la peau (peau synthétique) -Stimulation du système immunitaire -Vaisseaux sanguins artificiels -Pansements -Sils de structures chirurgicaux bio-résorbables -Agent anticoagulant -Agent hémostatique -Agent bactériostatique, spermicide -Agent anti-infectieux, anti bactérien, anti fongique -Agent anti-tumeur -Encapsulation de cellules, de facteur de croissance -Adsorption des plaquettes (protéines) -Thérapie angiogénique -Transfection(introduction d'ADN exogène dans les cellules) -Rétention d'eau ou d'ions, membrane de dialyse (ingénierie biomédicale)
-Pharmacie dermatologie vétérinaire ophtalmologie	-Matériels adsorbable avec possibilité de contrôle de libération de principe actifs (relargage de médicaments). -Systèmes d'administration de médicaments par voie oral, systémique ou local (via les muqueuses, voie nasale, oculaire, transdermique, ou intra –tumorale) -Adjuvant de vaccination

Alkaments neutraceutique -dentisterie -chirurgie dentaire	-Excipients -Formation de gels et microcapsules avec polymères anioniques -Encapsulation /immobilisation d'enzymes -Produits diététique -Crème de soins, produits dermatologiques (traitement de l'acné) -Lentilles de contacts -Complément alimentaire (produits amaigrissants) -Faculté d'augmenté la société -Diminution de taux de cholestérol -Fixateur de graisses - Lutte contre l'excédent pondérale (obésité) -Gel dentaire - Implants dentaires
--	---

IV-2 Agroalimentaire

Dans les industries alimentaires, l'utilisation de la chitine et le chitosane n'est pas encore généralisée, à l'exception des pays asiatiques comme le Japon ou on peut trouver de nombreux produits alimentaires enrichis en chitosane (nouilles, pate de soja) .Aux Etat-Unis, le chitosane est utilisé comme ingrédient dans certains applications et comme fils comestible pour protéger les aliments .En Europe, la réglementation sur l'utilisation du chitosane dans le domaine alimentaire est encore restrictive :le chitosane n'est autorisé que comme complément alimentaire (dans des formulations diététiques par exemple) pour réguler la flore intestinale et favoriser l'élimination du cholestérol . le chitosane , dans les doses recommandés , est cliniquement bien toléré .Cependant ,il ya un débat, souvent contradictoire , dans la littérature .comme dans le cas des applications médicales , les résultats et interprétations des études dépendent du type de chitosane utilisé .Comme nous l'avons déjà signales, il faut ajouter que l'utilisation du chitosane par les enfants , les femmes enceintes et les personnes allergique aux crustacés et déconseillé .

Les applications de la chitine et du chitosane dans le domaine agroalimentaire sont décrites dans le tableau 4. Dans l'industrie des boissons, la chitine est utilisée pour clarifier et /ou désacidifier les d'extraits de café, les jus de fruits et de légumes (38, 97,98,99,100,101) en raison notamment de son pouvoir flocculant .On retrouve la chitine dans la bière (immobilisation de la papaïne pour la clarification),le champagne et le vin

(immobilisation de la B-glucosides utilisée dans les productions viticoles) .Grace à ces propriétés coagulantes , le chitosane sert également à clarifié les jus de fruits (100,101) ou à diminuer les composés phénolique dans les vins (102).Ces deux biopolymères sont ,en effet ,dans l'industrie des boissons afin d'éliminer des liquides alimentaires une partie des composés indésirables (particules organique , flore microbienne indigène ,colloïdes entraînant des propriétés organoleptiques de mauvaise qualité ,métaux lourds ,pesticides résiduels, mycotoxines, endotoxine) qui sont notamment causes d'instabilité et de risques alimentaires ,ils peuvent également ajuster la compositions des boissons (complexation de protéines) pour aboutir à leur amélioration globale .Ces biopolymères ont donc progressivement remplacés des méthodes classiques de traitement des liquides alimentaires utilisant des composés tels que la bentonite , le Kaolin, la caséine , le dioxyde de sodium ou la lactalbumine , Ces dernier produits sont, en effet, susceptibles d'entraîner l'apparition de résidus d'allergènes dans les vins par exemple. Cependant, il faut noter que la chitosane d'origine animale pourrait lui aussi présenter les risques allergies et les producteurs doivent le mentionner sur l'étiquette de leurs produits comme l'exige la législation en vigueur. De plus en plus, on s'oriente vers une utilisation de chitosane d'origine fongique.

Tableau 7 : Applications industrielles de la chitine et de chitosane dans le domaine agroalimentaire

- Additifs (liant, émulsifiant, épaississant, de conservation)
- Restructuration de purées de fruits, de légumes ou de viande
- Stabilisation de la couleur et des arômes
- Libération de l'arôme ou de pigments
- Clarification, désacidification et détoxification des boissons et des liquides alimentaires
- Activité anti-bactérienne (préservation des aliments) enrobage alimentaire
- Effet antioxydant (prévention de l'oxydation)
- Extraction du fer (mauvaise odeur dans les viandes)
- Support d'immobilisation d'enzymes ou de cellules (fromagerie,domaine diététique, aquaculture)
- Ingrédient fonctionnel (agent fixateur, capacité prébiotique)
- Alimentation diététique (fixation du cholestérol, acides gras, mono-glycérides)
- Bioconversion pour la production de produits à haute valeur ajoutée
- Alimentation animale
- Formation de films (emballage)

La chitine est utilisée comme agent ou additif de conservation de fruits ou de légumes (98) et des aliments du fait de sa capacité à immobiliser les moisissures et les cellules microbiennes ou fongiques .le chitosane est également utilisé comme un agent antimicrobien pour éviter la détérioration des aliments et la prolifération bactérienne , et pour éviter la mélanose (noircissement) des crustacés et des mollusques .les modes d'action demandent ,néanmoins ,à être mieux connus . Le chitosane trouve de nombreuses

autres applications dans le domaine agroalimentaire en tant qu'additifs pour stabiliser les colorants, libérer des arômes, émulsifier ou épaissir des sauces, ou encore pour gélifier des aliments (produits restructurés) .il peut être également utilisé pour séparer des particules colloïdales dispersées dans les aliments grâce à ces propriétés coagulantes .comme agent moussant , il peut interagir avec des protéines (blanc d'œuf par exemple) . Cette propriété est intéressante dans le cas des crèmes desserts diététiques car ces produits doivent être « aérés » tout en contenant de faible quantité de matières grasses (99).le chitosane est également utilisé dans la fabrication des yogourts pour protéger les probiotiques (substances qui améliorent l'équilibre de la flore intestinale, contrôlent le niveau de cholestérol , et améliorent la digestion du lactose pour les personnes présentant des intolérances) .il s'agit ,en fait , de réaliser l'encapsulation de substances actives (bactéries *Bifidus* ou vitamines par exemples) pour permettre une meilleure efficacité . Les oligosaccharides de chitosane ont également une activité prébiotique (substances non digestibles cette fois-ci qui favorisent également le développement de la flore intestinale). En fromagerie, l'immobilisation d'enzyme permet aux fromages, qui nécessitent de long temps d'affinage, de développer de leur goût et leur arôme de maturation en toute sécurité (pour lutter contre la contamination du lactosérum par exemple). La chitine et le chitosane peuvent être utilisés comme supports pour immobiliser des cellules microbiennes, animales ou végétales et des enzymes industriels (papaïne, invertase, à amylase, pepsine ...) et comme vecteurs pour encapsuler des substances actives (54,100). Par exemples, les hydrogels de chitosane sont utilisés pour immobiliser des micro-organismes (*lactobacillus casei*) dans la production d'acide lactique et pour encapsuler des pigments (astaxantine) qui servent en aquaculture pour donner en saumons leur couleur typique. Le chitosane peut également extraire le fer qui est un catalyseur de l'oxydation des acides gras insaturés à l'origine de mauvaises odeurs dans les viandes précuites.

Enfin, Ces biomolymères sont des alternatives aux emballages d'origine pétrochimique (polymères plastique) en raison notamment de leurs propriétés filmogènes (39,100) .la chitine et ses dérivés peuvent être, en effet, extrudés sous forme des films pour des applications en emballage (Figure 7). De plus, les fonctions que l'on demande à un matériau d'emballage, à savoir, une protection contre les transferts (barrière à l'eau ou aux microorganismes), une protection chimique (100) et mécanique, et une protection microbiologique, sont remplies par le chitosane. Les emballages à base de chitosane (appelés « emballages verts ») trouvent des applications au Canada et au Japon .il ont un certain nombre d'avantages comme la « comestibilité » (non-toxique, non métabolisé, pas le goût et pas d'odeur), mais également un inconvénient, le prix .il peuvent être utilisés dans l'alimentaire mais également dans secteur agricole (protection des récoltes) et les articles de toilettes.

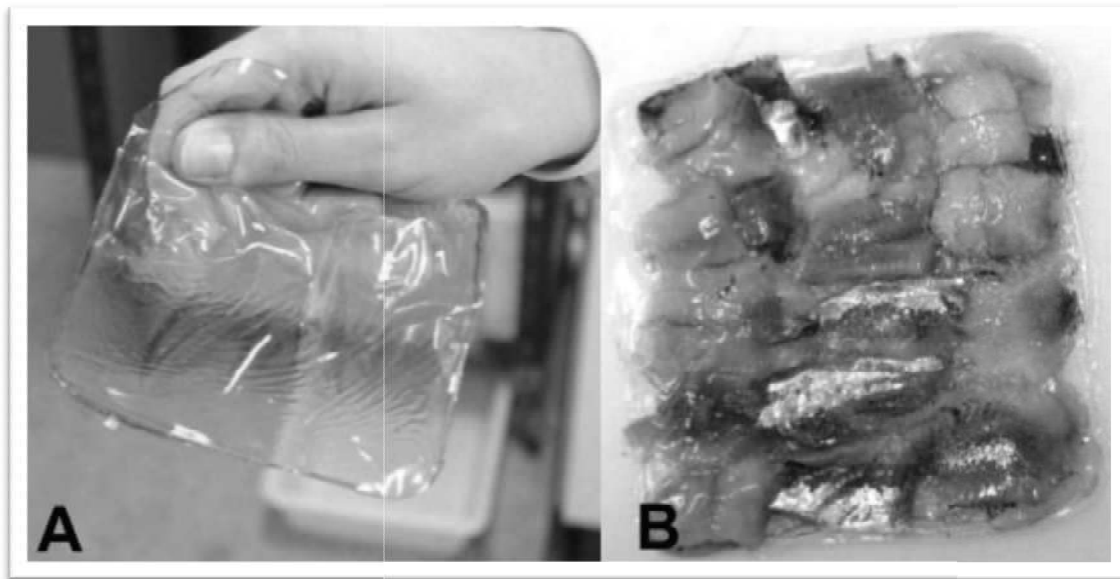


Figure 14 : Film comestible de chitosane (A) et son application dans la protection du poisson (B) (103).

Du point de vue technique, le chitosan constitue un agent de clarification, par exemple pour l'industrie du vin (104). Il permet d'éviter l'emploi du collagène, qui suscite la crainte des consommateurs depuis la crise de Creutzfeld-Jacob. Une réduction jusqu'à 95 % de la turbidité a été observée après utilisation de la chitine-glucane (68). De plus, le rôle antioxydant des dérivés de la chitine est exploité pour stabiliser les polyphénols du vin, et ainsi préserver sa couleur et ses arômes. Ils sont employés pour capter les métaux lourds par bio-adsorption, tels que le Cadmium, le Fer et le Plomb (105). D'autres applications existent, telles que l'utilisation du chitosan pour recouvrir des fruits et légumes après leur récolte ou lors du procédé de fabrication du café (106).

Les limites et les risques d'allergies

Des cas d'allergies ont été rapportés. Les procédés de fabrication et le degré de purification de la chitine peuvent être mis en cause puisque les allergènes incriminés seraient des agents chimiques tels que les métabisulfites, des amines biogènes ou des résidus protéiques tels que la trompomyosine (107). La chitine déclenche également des réactions immunitaires qui peuvent aboutir à des réactions allergiques (108,109). Néanmoins, certains auteurs, dont (110), revendiquent l'innocuité des compléments à base de dérivés de la chitine. De plus, le rôle du chitosan contre les inflammations liées aux réactions allergiques et à l'asthme a été décrit. L'explication de ces deux phénomènes antagonistes dépend de la taille du polymère (111).

La consommation de chitosan doit également être soumise à des précautions vis-à-vis du calcium. (112) ont montré qu'il limitait l'absorption du calcium tandis que les CHOS favoriseraient le phénomène inverse, et donc renforceraient les os (113).

IV-3 Agriculture

Les matériaux encapsulés à base de chitine et de chitosane se retrouvent également dans des produits agricoles (120,54,114,97,39) (tableau 5), En effet, la chitine, en particulier, pourrait devenir l'engrais naturel et le pesticide du futur. L'emploi de « bio-pesticides » est une augmentation et représente une alternative prometteuse. En agronomie, l'enrobage de semences des céréales avec des oligosaccharides de chitosane leur permet de résister aux attaques de champignons et des bactéries pathogènes. Cette activité antifongique se manifeste également pendant la vie de la plante de façon directe ou par stimulation de certains processus de défense. La chitine et le chitosane sont, en effet, capables de déclencher chez les plantes des mécanismes de défense contre les infections et les agressions parasitaires à des doses très faibles (quelque mg par m³ d'eau). Rabea et al.(115) ont montré, récemment, que les performances du chitosane dépendent essentiellement de sa MM. Le chitosane c'est un biofongicide naturel très efficace envers le *Fusarium oxysporum*, un champignon qui cause la pourriture racinaire des tomates cultivées en serre et en plein champ (97), et la tavelure de la pomme de terre. De même, il pourrait être utilisé, dans les années à venir, pour lutter contre *Botrytis cinerea* ou « pourriture grise », fléau tant redouté par les producteurs de vigne chaque année à l'époque des vendanges. Les techniques utilisées sont le saupoudrage au sol ou l'ajout au pied. L'épandage de chitine et de chitosane utilisés comme fertilisants renforce également le système racinaire, favorise par la même occasion l'épaississement de la tige et améliore la résistance lors de la germination, ce qui permet un accroissement du rendement protéique des céréales (39,40,114). Le chitosane est vraisemblablement un matériau d'avenir dans le domaine de l'élevage, à la fois sur le plan alimentaire et médical (97, 115). Il permet de conserver les aliments pour bétail et protège les animaux contre des problèmes bactériologiques ou viraux. En tant qu'adjuvant dans les vaccins, il permet de lutter contre les infections respiratoires qui affectent les troupeaux bovins. Il peut être aussi appliqué. Il peut être aussi appliqué sous forme de spray oculaire (97).

La chitine sert de substrat aux microorganismes producteurs de chitinase et d'anthraquinone par *Morinda citrifolia* par exemple (28). De plus, la chitine et ses dérivés jouent un rôle d'éliciteur sur les plantes. Il consiste à favoriser la production de métabolites secondaires qui renforcent les défenses immunitaires. Les dérivés de chitine stimulent par exemple la production de l'enzyme phénylalanine ammonia-lyase (PAL) et de la tyrosine ammonia-lyase (TAL), qui interviennent dans la synthèse de composés du système de résistance contre les pathogènes (35,116). Par conséquent, de meilleurs rendements de germination et de récolte sont obtenus (2,115). Enfin, les produits chitineux apportent de l'azote ($\approx 7\%$) lorsqu'ils se décomposent, contribuant à l'enrichissement du sol et de la plante.

Tableau 8: application de la chitine et du chitosane dans le domaine agriculture

L'emballage de semence (encapsulation)
Immobilisation cellulaire (horticulture)
Fongicide (« bio-pesticides »)
Fertilisant
Protection des cultures
Traitements des sols
Contrôle des métaux essentiels à la croissance des plantes
Augmentation des rendements
Alimentation animale
Vaccination animale

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 (43) Le chitosane et la chitine ont montré une résistance à certains parasites, bactéries, virus ou mycoses. Ils entraînent une activation des polynucléaires et des macrophages, qui jouent un rôle important dans le mécanisme de défense de l'organisme(114).

IV-4 Traitement des eaux

Des réductions de 70 à 98 % de la teneur en MES (matière en suspension, responsable de la turbidité) et de 55 à 80 % la demande chimique en oxygène (DCO) ont

été observées pour le traitement des eaux usées en utilisant du chitosan comme flocculant(113).

Le chitosane peut être utilisé de plusieurs façons, la principale étant comme flocculant (104). Les colloïdes en suspension, les métaux lourds, les colorants des eaux de teintureries (117) ou encore les molécules aromatiques et phénoliques (55) s'agglomèrent avec le chitosan et les floccs sont retenus par filtration. Les floccs de chitosane réduisent de 50 % les MES (118). Un autre mode d'action consiste à intégrer le chitosane directement dans la composition des membranes de filtration.

Les propriétés poly électrolytes, chélatantes et complexantes du chitosane en font un bon candidat pour les applications environnementales (20,38,97,54) dans le domaine de traitement des eaux usées (118,119),(tableau 6). Le chitosane peut être utilisé aussi bien à l'état solide qu'en solution, cette application étant basée sur le caractère polycationique du polymère en milieu acide, son efficacité varie selon la concentration en polymère et le PH de milieu (41,55). Néanmoins, la solubilité du chitosane en milieu acide ouvre la porte, en traitement des eaux, à de nombreuses applications dans le domaine de la coagulation-floculation, de la chélation, de l'adsorption ou de ultrafiltration assistée par complexation (par exemple dans le cas de la complexation d'ions métalliques et séparation par membrane). Le chitosane est déjà utilisé dans le traitement des eaux industrielles usées, il peut être utilisé comme un agent coagulant, chélatant ou adsorbant pour complexer une large gamme de polluants comme le montrent les nombreuses études faites en laboratoire (118,119). Par exemple, son fort pouvoir chélatant et adsorbant lui permet d'éliminer des effluents industriels les métaux (118,41), les molécules aromatiques et phénoliques (55,119), et les colorants (120), même à l'état de traces, ces excellentes propriétés flocculantes peuvent permettre l'élimination des matières minérales (colloïde, acides humiques) et organiques (effluents agroalimentaires, papetiers et textiles), mais aussi des microorganismes, et en font un matériau de choix pour le traitement des eaux usées utilisant des procédés physico-chimiques en traitement primaire (55,119). Une autre application récente consiste à immobiliser des microorganismes ou des boues dans des matrices à base de chitosane pour traiter des eaux contaminées, toujours sur le même principe de l'encapsulation (121). Cette immobilisation permet une utilisation dans des conditions environnementales extrêmes (PH extrêmes, présence de solvants organiques), de réutiliser les cellules et de procéder ainsi en continu. Le chitosane est également utilisé dans le traitement des boues, notamment comme agent de déshydratation.

Tableau 9 : Application de la chitine et de chitosane dans le domaine de l'environnement

Champ d'application	Application
<ul style="list-style-type: none"> • Traitement de l'eau potable • Traitement des eaux usées • Traitement des eaux de piscines • Chélation des métaux lourds • Récupération des métaux précieux • Décoloration des eaux • Filtration membranaire • Traitement des boues 	<ul style="list-style-type: none"> • Ingénierie de l'eau (coagulation /floculation, filtration, adsorption) • Agent coagulant • Agent chélatant de cations • Réduction des métaux toxiques et radio –isotope • Récupération des métaux réutilisables • Enlèvement du fer de manganèse de piscine • Agent décolorant • Agent de déshydratation des boues

Du fait de leur forte densité de charge, les dérivés de chitine sont capables d'interagir avec les MES, les microorganismes et les ions métalliques (122). Cette propriété est utilisée pour piéger les composés dangereux, pour les éliminer ou les doser (123,124). Guibal et al. (1996)(125) ont étudié l'impact des caractéristiques des dérivés du chitosan et de leur environnement (lumière, gaz) sur leur capacité d'adsorption avec les ions uranyle. Le chitosan est également employé pour recycler les effluents de l'industrie textile en retenant des pigments (126).

L'encapsulation d'enzyme par des matrices chitineuses est une piste étudiée pour le traitement de l'eau. Miao et al. (127) ont montré la capacité du chitosan associé à la glutaraldéhyde à immobiliser la peroxydase extraite de raifort. Cette enzyme est employée pour éliminer les phénols des effluents de raffineries (128).

IV-5 Autres domaines d'application

La chitine et le chitosane trouvent également des applications dans d'autres domaines(121) ; par exemple, en chimie, ils sont utilisés en tant que super-adsorbants (85,29), phases stationnaires pour la chromatographie (30,102) et l'osmose inverse (120), capteur ou encore support pour la catalyse (129,22)(tableau :7) .un autre domaine potentiel est celui des peintures , A leur actuelle , les peintures anti-salissures à base de composés organométallique (à base d'étain ou de cuivre) ,constituent la méthode la plus efficace pour lutter contre le développement des organismes marins sur les surfaces immergées .Ces peintures servent notamment à empêcher que ne s'agglutinent sur les parois des navires des couches de bactéries et d'algues , ce qui réduit la durabilité et hydrodynamicité de navire et augmente sa consommation de carburant . Cependant, les conséquences environnementales de ces biocides sont considérables et des efforts ont été mis en œuvre pour la formulation d'alternatives plus éco-compatibles pour les écosystèmes marins. Le chitosane, connu pour ses propriétés antibactériennes et anti-algales, est utilisé dans les nouvelles formulations de peintures non toxiques pour protéger la coque des bateaux (98).

Tableau 10: Autres domaines d'applications de la chitine et de chitosane

Domaine d'application	Exemple d'application
Chimie	<ul style="list-style-type: none"> • Catalyse • Capteurs chimiques • Films biodégradables (emballages) • Super-adsorbants • Séparation membranaires (filtration) • Osmose inverse • Chromatographie (liquide, gazeuse) • Cristaux liquides
Biotechnologie	<ul style="list-style-type: none"> • Immobilisation des cellules et enzymes • Matrice pour culture et régénération cellulaire • Membranes
Papeterie	<ul style="list-style-type: none"> • Rétention d'eau (filière papetière et textile). • Additifs pour pâtes à papiers (augmentation de la résistance du papier à la déchirure). • Agent anti-bactérien et imperméabilisant dans la filière textile. • Nanomatériaux « intelligents ».
Œnologie	<ul style="list-style-type: none"> • Clarification, désacidification, et stabilisation des vins • Traitement préventif ou curatif des vignes
Photographie	<ul style="list-style-type: none"> • Films photographiques, extraction de l'argent
Autres	<ul style="list-style-type: none"> • Acoustique (membrane des haut-parleurs)

L'immobilisation d'enzymes dans des matrices à base de chitosan s'étend aujourd'hui à tous les domaines. Les dérivés de chitine peuvent intégrer des électrodes, des capteurs, des phases stationnaires de colonne de chromatographie, des membranes d'osmose inverse et de dialyse. Dans l'industrie du papier et de la photographie, on utilise le chitosan pour obtenir une meilleure surface et pour résister à l'humidité. Les feuilles enduites de chitosan renforcent les propriétés morphologiques, mécaniques, optiques, de vieillissement et offrent une meilleure qualité d'impression (14). Dans le domaine textile, des principes actifs peuvent être encapsulés dans du chitosan et imprégnés dans les tissus pour fabriquer des vêtements dits « intelligents ». Les principes actifs se diffusent progressivement sur la peau à mesure que le vêtement est porté (114). Le chitosan est également capable d'améliorer la force et la rigidité d'un tissu (14). Enfin, la chitine, comme substrat nutritif, favorise la croissance de microorganismes chitinolytiques. Cette propriété est exploitée pour améliorer des composts (65) et comme méthode d'identification de ces microorganismes (13).

V-EVOLUTION DES VOLUMES DE VENTES PAR DOMAINE D'APPLICATION

La figure illustre, l'évolution des secteurs d'application du chitosane de 2001 à 2006

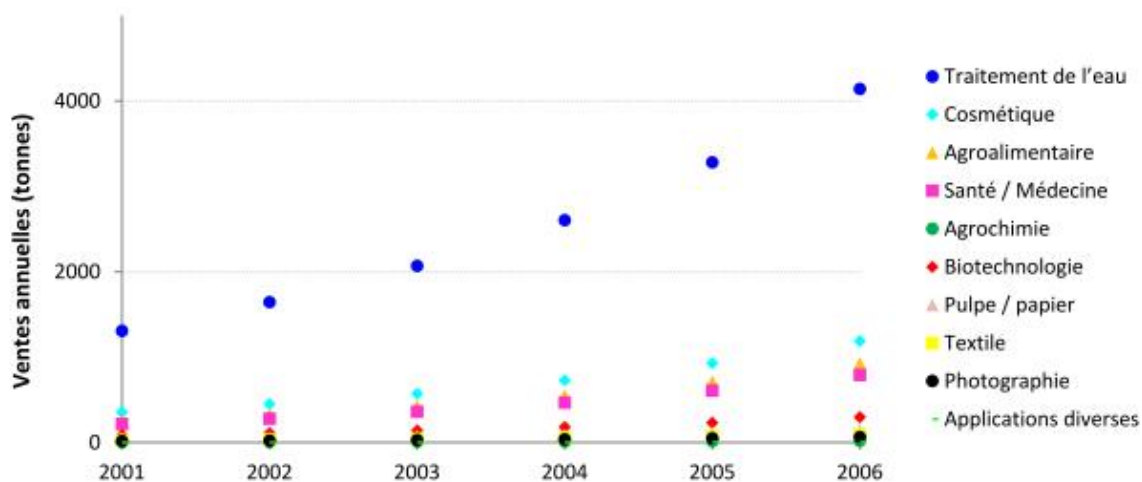


Figure 15: Evolution des domaines d'application pour lesquels le chitosane est employé (D'après Gia, 2010 in roux, 2012)(130)

Les applications du chitosane sont largement dominées par le secteur du traitement de l'eau, qui atteint plus de 4 000 tonnes consommées en 2006. Ce secteur est suivi par celui de la cosmétique, de l'agroalimentaire, du médical et de l'agrochimie. Les autres secteurs tels que la biotechnologie, la papèterie, le textile et la photographie représentent de faibles volumes de ventes. Les prévisions évolueraient peu à l'horizon 2015 (33).

Le premier pays consommateur de chitosan, notamment pour le secteur du traitement de l'eau est le Japon, avec près de 3 700 t en 2006. Les pays occidentalisés, tels que les États-Unis, consomment davantage le chitosan dans les domaines de la cosmétique, de l'agroalimentaire, du médical et de la biotechnologie. La zone Asie-Pacifique est leader dans la consommation du chitosan en agriculture/agrochimie

Domaine d'application	USA	Europe	Japon	Asie-Pacifique	Canada	Autres	Total
Traitement de l'eau	450,3	368,6	2 900,8	245,8	74,9	101,0	4141,4
Cosmétique	535,8	173,6	209,6	136,4	54,2	79,8	1189,4
Agroalimentaire	352,0	209,6	197,2	72,2	67,8	33,1	931,9
Santé/Médecine	306,5	84,9	156,2	200,5	31,1	13,9	793,1
Agrochimie	125,6	73,4	89,0	285,5	29,2	20,0	622,7
Biotechnologie	131,2	37,1	57,5	45,2	15,8	12,1	298,9
Pulpe/papier	39,1	28,9	36,1	29,6	11,2	6,8	151,7
Textile	23,47	17,8	25,5	19,9	6,3	4,3	97,3
Photographie	13,04	9,1	29,7	8,9	2,9	1,7	65,3
Applications diverses	28,89	18,9	54,1	19,1	8,3	4,1	133,4
TOTAL	2005,9	1021,9	3755,7	1063,1	301,7	276,8	8425,1

Tableau 11: Répartition des applications du chitosane , en tonnes , en 2006 (Gia, 2010 in roux ,2012)(130)

Conclusion

Conclusion

L'utilisation thérapeutique du chitosane et toutes les applications est très récente. Jusqu'à présent, ses usages étaient limités aux industries des cosmétiques et des textiles. Mais il fait actuellement l'objet d'intenses recherches dans les domaines du génie médical et de la pharmacologie et cosmétologie et plusieurs domaines.

Il semble que le chitosane soit en voie de trouver son utilité en médecine classique comme « véhicule » de médicaments ou d'autres substances thérapeutiques (vaccins, antigènes ou gènes). On l'utilise, par exemple, pour confectionner des microcapsules qui peuvent préserver la substance thérapeutique jusqu'à ce qu'elle atteigne sa cible physiologique (œsophage, estomac ou côlon, notamment).

On conclure que la chitine et le chitosane ont suscité une attention considérable ces dernières années, à cause des résultats merveilles dans plusieurs domaines et notamment dans les domaines précis (pharmaceutiques et cosmétiques et biomédicaux), ils restent toujours comme de biopolymères mystérieux et vifs et sujette à la recherche pour améliorer leur utilité. Ce travail que j'ai fait pour clarifier l'importance de la chitine et du chitosane pour des fins scientifique

La chitine et le chitosane provoquent un intérêt de plus en plus grand en raison de leurs nombreuses propriétés intrinsèques et leur large domaine d'applications (domaine pharmaceutique, ingénierie biomédical, cosmétique...), Ces derniers selon leur pureté et leur masse molaire, quand augmente le degré désacétylation qui va résulte la pureté très important pour les domaines précis et application très efficace ,et la chitine et chitosane sont connu pour être un polymère à la fois naturel , non toxique , biodégradable et biocompatible et aussi très réactif et versatile , sa modification chimique par des groupements fonctionnels et d'un grand intérêt car elle permet d'élargir les domaines d'application du chitosane , et par apport aspect économique le chitosane est encore plus demandé sur le marché, avec degré desacétylation très élevé laissant penser a les applications plus raffinées dans les domaine pharmaceutique et cosmétique et biomédical

Dans ce travail que j'ai aussi montré le chitosane et la chitine sont reproductible ,hypoallergéniques , particulièrement utilisé dans le domaine médicale , ingénierie cellulaire ,cicatrisation des plaies , support de culture ,thérapie génique ,cancérologie ,ophtalmologie, antifongique , antibactérien, stimulation de système immunitaire et traitement des eaux....an niveau fondamental , Ce sont des membranes et les nanomatériaux a base de chitosane qui suscitent actuellement de nombreuses recherches, et le chitosane ont également un intérêt en nutrition qui contribue la réduction de taux de cholestérol dans le sang ils favorisent le développement de bifidobactéries qui aide au maintien de la flore intestinal et n'oublie pas la source de l'extraire qui est un étape primordial il doit le connaître avant les applications,

A la fin on peut faire des merveilles avec la chitine et chitosane si on connaît leur valeur, Et aussi l'utilisation de ces matériaux, qui est extrait à partir de carapace de crevette et les cuticules des insectes et la paroi de champignons, mieux que de le finaliser a la poubelle qui créer des problèmes, l'utilisation de ses coproduit d'éviter la pollution de l'environnement. Et réutilisé ces déchets pour les applications.

Références bibliographiques

- (1) **RINAUDO, M.** (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science*, 31(7).pp 603-632.
- (2) **CRINI, G. GUIBAL, E. MORCELLET, M. TORRI, G. & BADOT, P.-M.** (2009).« Chitine et chitosane. Préparation, propriétés et principales applications». Dans G. Crini, P.-M. Badot, & E. Guibal (Éds.), *Chitine et chitosane. Du biopolymère à l'application*. Presses universitaires de Franche-comté. pp. 19-54.
- (3) **NUGRAHA EDHI SUYATAMA.** (2006) .développement de films biodégradables a base de chitosane: études du mélange chitosane/Pla, de la plastification et de la comptabilisation. Thèse de doctorat, université de Reims.
- (4) **ROBERTS, G.A.F.** (1992) .Structure of chitin and chitosan. In: *Chitin chemistry*, edited by G.A.F. Roberts. Mac Millan Press. Houndmills. pp. 1-53.
- (5) **CAROLINE CREUZET, RACHEL, A et RINAUDO, M.** (2006). Synthèse et étude d'hydrogels thermosensibles obtenus par modification chimique contrôlée du chitosane. *L'actualité chimique* .p 294.
- (6) **SHAHIDI, F. J.K.V. ARACHI and Y.J. JEON.** (1999). Food applications of chitin and chitosans. *Trends Food Sci. Tech.*, **10**. pp 37-51.
- (7) **TOLAIMATE, A. J. DESBRIERES, M. RHAZI and A. ALAGUI.** (2003) . Contribution to the preparation of chitins and chitosans with controlled physico-chemical properties. *Polym.*, **44**. pp 7939-7952.
- (8) **RUSHING Pan, J., C. HUANG, S. CHEN et Y.C. CHUNG** (1999). Evaluation of a modified chitosan biopolymer for coagulation of colloidal particles. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng.Asp.* **147** (3). pp 359-364.
- (9) **CRINI,G .BADOT,P,M.** (2007) .Traitement et épuration des eaux industrielles pollués .Presses universitaires de Franche-Comité. P 366 .
- (10) **KASAAI ,M.R.** (2007) . Calculation of Mark –Houwink- Sakudara (MHS) equation viscometric constants for chitosane in any solvent –temperature system using experimental reported viscometric constants data “. *Carbohydrate Polymers* .pp 68477-488.
- (11) **ROBERTS , G.A.F., DOMSZY .**(1982). Detarmination of the viscometric constants for chitosane .*International journal of biological Macromolécules* ,**4**.pp 374-377.
- (12) **BRUGNEROTTO J.,J.LIZARDI ,F.M.GOYCOOLEA . W .Arguelles –Monal,J. Desbières and M. Rinaudo .** «An infrared inverstigation in relation with chitin and chitosan characterization» *PPolym.*, **42** (2001) .pp 3569-3580.

- (13) HEUX ,L.,BRUGNEROTTO ,J.,DESBRIRES ,J., VERSALI ,M.F. & RINAUDO , M. (2000) «Solid state NMR for determination of degree of acetylation of chitin and chitosane».Biomacromol.,1 .pp 746-751.
- (14) MAGHAMI , G.G., and G.A.F.ROBERT .(1988). «Evaluation of the viscometric constants for chitosane ». Die Makromolekulare Chemie ,189 (1),pp 195-200.
- (15) YANG B.Y & MONTGOMERY .R . (2000).«Degree of acetylation of heteropolysaccharides» Carbohydrate .Research.323 .pp 156-162 .
- (16) PILLIA .C.K.S.,PAUL .W . (2009). Sharma .C.P. Chitine and Chitosane Polymers :Chemistry,Solubility and fibre formation formation .Progress in Polymer Sciences 34 . pp. 641-678.
- (17) PETER , M.G.(1995).Applications and environmental aspects of chitin and chitosane.J.M.S. Pure Appl .Chem.A32 . pp 629-640.
- (18) YEN M.T .YANG J.H. ,MAU J. L . (2009), « physico-chemical characterization of chitin from crab shells ».Carbohydrate Polymers 75. pp 156-162 .
- (19) SHIMAHARA K , TAKIGUCHI Y. (1988). *Preparation of crusta-cean chitin* in :Methods in enzmology .Wood WA ,Kellog ST,eds . New York : Academic Press 161. p417.
- (20) HEJAZI R, AMIJI M, J. (2003). Control Release 89. p 151.
- (21) SANDFORD PA . (1989). *Chitosan : commercial uses and potentials* in: Chitin and chitosan. Sources , chemistry, biochemistry, physical properties and applications. Skjak-Braek G, Anthonsen T , Sandford PA , eds London and New York : Elsevier.p51.
- (22) GULBAL, E. (2005) .Prog Polym Sci 30.§
- (23) DE JIN R, SUH JW, PARK RD, KIM YW, KRISHNAN HB, KIM KY.(2005) : Effect of chitin compost and broth on biological control of Meloidogyne incognita on tomato (Lycopersicon esculentum Mill.). Nematology, 7. pp 125-132.
- (24) WIGNER E. SCHENDENWEIN I. ZENTEK J. (2004) . Berl Munch Tierartl Wochenshr .117. p 310.
- (25) KURITA , K. (1997). *Chitin and chitosan derivative* in: Desk reference of functional polymers: synthesis and applications. Arshady R, ed. Washinton: American Chemical Society. p239.
- (26) KURITA , K. (2001).Prog Polym Sci 26. p1921.
- (27) KURITA , K. *Chemical modificatoin of chitin and chitosan* in: Chitin in nature and technology.
- (28) CRINI ,G ., BADOT P .M., (2008) . Appllication of chitosane ,a natural aminopolysaccharide,for dye removal from aqueous solution by adsorption processes using batch studies :Areview of recent literature .Progress in polymers Sciences .33 pp 399-447.
- (29) DUTKIEWIEZ JK, (2002) .J Boimedical Mat Res 63.p 373.

- (30) **FRANCO P, SENSO A, OLIVEROS L, MINGUILLON C** .(2001) . J Chromatogr 906 .p155.
- (31) **GOMEZ RAMIREZ M, ROJAS AVELIZAPA LI, CRUZ CAMARILLO R** . (2004) : Colloidal chitin stained with Remazol Brilliant Blue R, a useful substrate to select chitinolytic microorganisms and to evaluate chitinases. Journal of microbiological methods 56(2):pp 213-219.
- (32) **GERENTE C, LEE VKC, Le C loirec P, Mcky G** . (2007) . Critical Rev Environ Sci Technol p 3741.
- (33) **GIA** . (2010). CHITINE ET CHITOSAN. Un Rapport De Gestion Stratégique Global. Global Industry Analysts; MCP-2039: p230.
- (34) **RAVI Kumar MNV**. (2000).React Funct Polym 46.p1.
- (35) **KHAN W, PRITHIVIRAJ B, SMITH DL**, (2003). Chitosan and chitin oligomers increase phenylalanine ammonia-lyase and tyrosine ammonia-lyase activities in soybean leaves. Journal of Plant Physiology, 160(8):pp 859-863.
- (36) **SORLIER P, DENUZIERE A, VITON C, DOMARD A** .(2001). Biomacromolecules 2 .p765.
- (37) **SYNOWIECKI J, AL-KHATIEEB NA**. (2003). Critical Rev Food Sci Nutrition 43.p145.
- (38) **STRUSZCYK MH** . (2002). Polimery 47.p396.
- (39) **HARISH PRASHANTH KV, THARANATHAN RN**.(2007). Trends Food Sci Technol 18.P117.
- (40) **GOOSEN MFA**.(1997). *Applicatoins of chitin and chitosan* .Lancaster: Technomic Publishing.
- (41) **GUIBAL E**. (2004). Sep Purif Technol 38.P 43.
- (43) **SANDFORD PA .HUTCHINGS GP**.(1987) : *chitosan – a natural , cationic biopolymer : icommercial and applications* in: Industrial poly sacchairdes : Genetic engieneering ,Structure /properly and applicatoins. Yalpani M. ed. Elsevier.p 363.
- (44) **HOWLING GI, DETTMAR PW, GODDARD PA, HAMPSON FC, DORNISH M, Wood EJ**.(2001): The effect of chitin and chitosan on the proliferation of human skin fibroblasts and keratinocytes in vitro. Biomaterials, 22(22): pp 2959-2966.
- (45) **LAHIJI A, SOHRABI A, HUNGERFORD DS, FRONDOZA CG**.(2000): Chitosan supports the expression of extracellular matrix proteins in human osteoblasts and chondrocytes. J Biomed Mater Res, 51(4):pp586-595.
- (46) **RIBEIRO MP, ESPIGA A, SILVA D, BAPTISTA P, HENRIQUES J, FERREIRA C, SILVA JC, BORJES JP, PIRES E, CHAVES P et al**.(2009): Development of a new chitosan hydrogel for wound dressing. Wound Repair Regen, 17(6):pp 817-824.
- (47) **MINAGAWA T, OKAMURA Y, SHIGGEMASA Y, MINAMI S, OKAMOTO Y** .(2007). Effects of molecular weight and deacetylation degree of chitin/chitosan on wound healing. Carbohydr Polym, 67(4): pp640-644.

- (48) **ZARZYCKI R, MODRZEJEWSKA Z.**(2003). Polim Med .33. p 47.
- (49) Collagen is a fibrous glycoprotein that makes up our tissue, is located in lots of parts of the body, and has interesting properties. 15-20% of our body is made of collagen[en ligne].Akropharma ,2014.[consulter le 05/09/2014].dispenible sue Web:
<<http://www.arkopharma.com/advice/the-guide-to-collagen#.VETibkftmCz>>
- (50) **ALONSO Mj, SANCHEZ A.**(2001). J Pharm Pharmacology .55 p 1451.
- (51) **DAVIS SS, ILLUM L .** (2003). Clin Pharmacokinetics . 42.p 1107.
- (52) **JING SB, LI L , JI D , TAKINGUCHI Y, YAMAGUCHI T.** (1997) . J Pharm Pharmacol. 49 .p 721.
- (53) **KASAAI ,M.R.J. ARUL ,S.L.Chitine et G .CHARLET.**(1999) . «The use of intense femtosecond laser pulses for the fragmentation of chitosane ».J.Photochem .Photobiol ., A: Chem., 120.pp 201-205.
- (54) **MUZZARELLI RAA.** (1983). Carbohydr Polym 3.p53.
- (55) **NO Hk , MEYERS SP,** (2000). Rev Environ Contam Toxicol 163 . p 1.
- (56) **THANOU M , JUNGINGER HE.**(2005)..*Pharmaceutical applications of chitosan and derivatives* in: Polysaccharides .Structural diversity and functional versatility. Ddumitro S.ed. New York : Matreel Dekker.2. p661.
- (57) **RAVI KUMAR MNV. MUZZARELLI RAA . MUZZARELLI C.SASHIW H, DOMB AJ.**(2004).Rev 104 p 6017.
- (58) **AGNIHOTRI SA, MALLIKARJUNA NN, AMINABHAVI TM** (2004) Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery. J Control Release100(1):pp 5-28.
- (59) **BERGER J, REIST MAYER JM , FELT O, PEPPAS NA , GURNY R .**(2004). Eur J Pharm Biopharm .57 .p19.
- (60) **PRABAHARAN M , MANO JF.** (2005).Drug Delivery 12. p41.
- (61) **KATO , Y. ONISHI , H. MACHIDA , Y.** (2003). Curr Pharm Biotechnol 4. p 303 .
- (62) **KAS , S.** (1997). J Micoencapsulation 14. p 689.
- (63) **NECHAEVA , E .** (2002). Expert Rev Vaccines 1 .p385 .
- (64) **FUKUMORI Y, ICHIKAWA H.** (2006) . Adv Powder Technol .17 . p1.
- (65) **GOGEV S, VERSALI MF, THIRY E.** (2003). Ann Med Vet 147.p343.
- (66)**BERTHOLD A, CREMER K, KREUTER J.** (1996). Preparation and characterization of chitosan microspheres as drug carrier for prednisolone sodium phosphate as model for antiinflammatory drugs. Journal of Controlled Release, 39(1): pp17-25 .

- (67) **HAYASHI Y, OHARA N, GANNO T, YAMAGUCHI K, ISHIZAKI T, NAKAMURA T, SATO M.** (2007). Chewing chitosan-containing gum effectively inhibits the growth of cariogenic bacteria. *Arch Oral Biol*, 52(3):pp 290-294.
- (68) **KIM S-K.** (2010). *Chitin, Chitosan, Oligosaccharides and Their Derivatives: Biological Activities and Applications*: CRC Press..
- (69) **SAPPELLI PI, BALDASSARRE V, MUZZARELLI RAA, EMANUELLI M.**(1986). *Chitosan in dentistry* in: Chitin in nature and technology, Muzzarelli R, Jeuniaux C, Gooday GW, eds. Plenum Press VI .p507.
- (70) **SENEL S, MCCLURE SJ.**(2004) . *Adv Drug Delivery Rev* 56.p1467.
- (71) **SENEL S, MCCLURE SJ.** (2004). Potential applications of chitosan in veterinary medicine. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 56(10): pp1467-1480.
- (72) **SUGANO M, FUJIKAWA T, HIRATSUJI T, NAKASHIMA K, FUKUDA N, HASEGAWA Y.** (1980). *Am J Clin Nutr* 33 .p 787 .
- (73) **MUZZARELLI RAA.** De Vicenzi M, *Chitosans as dietary food additives* in: Applications of chitin and chitosan, Goosen MFA, ed .Lancaster: Technomic Publishing (1997) 115.
- (74) **LANG, G., CLAUSEN, T.** (1989). The use of chitosan in cosmetics. In: Skjak-Braek, G., Thorleif Anthosen, T., Standford, P. (Eds.), *Chitin and Chitosan. Sources, Chemistry, Biochemistry. Physical Properties and Applications*. Elsevier Applied Science, London and New York. pp 139–147.
- (75) **HIRANO S, HORIUCHI K.** (1989). Chitin gels. *Int J Biol Macromol*, 11(4):pp253-254.
- (76) **ALLAN CR, HADWIGER LA.** (1979) . Fungicidal effect of chitosan on fungi of varying cell-wall composition. *Exp Mycol*, 3(3): pp285-287.
- (77) **CHEN CS, LIAU WY, TSAI GJ.** (1998). Antibacterial effects of N-sulfonated and N-sulfobenzoyl chitosane and application to oyster preservation. *J Food Prot*, 61(9):pp1124-1128.
- (78) **MUZZARELLI RAA, JEUNIAUX C, GOODAY GW.** (1986).eds. Plenum Press V. p287.
- (79) **AAM BB, HEGGSET EB, NORBERG AL, SORLIE M, VARUM KM, EIJSINK VGH.** (2010). Production of Chitooligosaccharides and Their Potential Applications in Medicine. *Mar Drugs*, 8(5):.pp1482-1517.
- (80) **SUZUKI K, MIKAMI T, OKAWA Y, TOKORO A, SUZUKI S, SUZUKI M.** (1986). Antitumor effect of hexa-N-Acetylchitohexaose and chitohexaose. *Carbohydr Res*, 151.pp 403-408.
- (81) **NAM K-S, KIM M-K, SHON Y-H.**(2007). Chemopreventive effect of chitosan oligosaccharide against colon carcinogenesis. *Journal of microbiology and biotechnology*, 17(9).pp1546-1549.
- (82) **SHEN KT, CHEN MH, CHAN HY, JENG JH, WANG YJ.**(2009). Inhibitory effects of chitooligosaccharides on tumor growth and metastasis. *Food Chem Toxicol*, 47(8).pp1864-1871.

- (83) WU T, ZIVANOVIC S, HAYES DG, WEISS J.** (2008).Efficient reduction of chitosan molecular weight by high-intensity ultrasound: Underlying mechanism and effect of process parameters. *J Agric Food Chem*, 56(13).pp5112-5119
- (84) ITO M, BAN A, ISHIHARA M.**(2000). Anti-ulcer effects of chitin and chitosan, healthy foods, in rats. *Japanese Journal of Pharmacology*, 82(3).pp218-225.
- (85) KLOKKEVOLDI PR, VANDEMARK L, KENNEY EB, BERNARD GW:** Osteogenesis enhanced by chitosan (poly-N-acetyl glucosaminoglycan) in vitro. *J Periodont*, 1996, 67(11):1170-117.
- (86) PARK KM, JOUNG YK, PARK KD, LEE SY, LEE MC.**(2008).RGD-conjugated chitosan-Pluronic hydrogels as a cell supported scaffold for articular cartilage regeneration. *Macromol Res*, 16(6).pp 517-523.
- (87) RATANAVARAPORN J, KANOKPANONT S, TABATA Y, DAMRONGSAKKUL S** .(2009).Growth and osteogenic differentiation of adipose-derived and bone marrow-derived stem cells on chitosan and chitooligosaccharide films. *Carbohydr Polym*, , 78(4):873-878.
- (88) SANO H , SHIBASAKI K.** (2003). *Bull Toyko Dent Coll* .44.p 9.
- (89) LANGER RC, VINETZ JM:** Plasmodium ookinete-secreted chitinase and parasite penetration of the mosquito peritrophic matrix. *Trends Parasitol*, 2001, 17(6).pp 269-272.
- (90) MACLAUGHLIN FC, MUMPER RJ, WANG JJ, TAGLIFERRI JM, GILL I, HINCHCLIFFE M, ROLLAND AP.**(1998). Chitosan and depolymerized chitosan oligomers as condensing carriers for in vivo plasmid delivery. *Journal of Controlled Release*, , 56(1-3).pp 259-272.
- (91) TSAI YL, HAYWARD RE, LANGER RC, FIDOCK DA, VINETZ JM.** (2001). Disruption of Plasmodium falciparum chitinase markedly impairs parasite invasion of mosquito midgut. *Infect Immun* , 69(6).pp 4048-4054.
- (92) TAKEO S, HISAMORI D, MATSUDA S, VINETZ J, SATTABONGKOT. J, TSUBOI T** . (2009). Enzymatic characterization of the Plasmodium vivax chitinase, a potential malaria transmission-blocking target. *Parasitol Int*, 58(3).pp 243-248.
- (93) PRASHANTH KVH, THARANATHAN RN.**(2005). Depolymerized products of chitosan as potent inhibitors of tumor-induced angiogenesis. *Biochimica et biophysica acta-general subjects*, , 1722(1).pp 22-29.
- (94) JAYAKUMAR R, PRABAHARAN M, KUMAR PTS, NAIR SV, TAMURA H:** .(2011).Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications. *Biotechnol Adv*, , 29(3):pp 322-337.
- (95) KUMAR M, MUZZARELLI RAA, MUZZARELLI C, SASHIWA H, DOMB AJ:** Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives. *Chem Rev*, 2004, 104(12):6017-6084.
- (96) PENICHE C, ARGUELLES-MONAL W, PENICHE H, ACOSTA N.** (2003). Chitosan: An Attractive Biocompatible Polymer for Microencapsulation. *Macromolecular Bioscience*, 3(10).pp 511-520

- (97) **PROPIESZNY H, STRUSZCYK H, CHRRKOV SN, ATABEKOV JG.** (1994). *New applications of chitosan in agriculture* in: Chitin world. Karniki SZ, ed. Bremerhaven: Wirtschaftsverlag NW .p 246.
- (98) **PROPIESZNY H, STRUSZCY H, CHIRKOV SN, ATABEKOV JG.**(1994). *New applications of chitosan in agriculture* in: Chitin world . Karniki SZ, ed. Bremerhaven: Wirtschaftsverlag NW; p 246.
- (99) **GOYCOOLEA FM, Arguelles –Monal W, PENICHE C, Higuera-Ciapara I.** (2000) *Chitin and chitosan-Develop-ments in food science* in: Novel macromolecules in food systems, Doxastakis G, Kiosseoglou V, eds , Amsterdam: Elsevier 41.p 265 .
- (100) **AGULLO E, RODRIGUEZ MS, RAMOS V, ALBERTENGO L.** (2003). *Macromol Boisci* 3. p 52.
- (101) **ZHANG M, KOHR E, HIRANO S.** (1994) . *Hydrogels of chitin and chitosan* in: Food hydrocolloids: structures, properties and functions . Nishinari K, Doi E, eds, New York: Plenum Press 65.
- (102) **GOCAN S.** (2002) . *J Chromatolgrphic Sci* 40.p538.
- (103) **MIRIAM Pérez-Mateos (ca 2008)** : Les applications alimentaires du chitosane et dérivés, Instituto del Frío (CSIC), José Antonio Novais, 10, E28040 Madrid, Spain .
- (104) **CHATTERJEE S, CHATTERJEE BP, GUHA AK.**(2004). Clarification of fruit juice with chitosan. *Process Biochem,* , 39(12): pp2229-2232.
- (105) **BORNET A, TEISSEDRE PL.** (2008). Chitosan, chitin-glucan and chitin effects on minerals (iron, lead, cadmium) and organic (ochratoxin A) contaminants in wines. *Eur Food Res Technol,* , 226(4):pp 681-689
- (106) **SCHERUHN E, WILLE P, KNORR D.** (1999). Studies of acid binding properties of chitosan in coffee beverages. *Nahr-Food,* , 43(2):pp 100-104(89).
- (107) **LOPATA AL, O'HEHIR RE, LEHRER SB** (2010) Shellfish allergy. *Clinical & Experimental Allergy,* 40(6):pp850-858.
- (108) **REESE TA, LIANG HE, TAGER AM, LUSTER AD, VAN ROOIJEN N, Voehringer D, Locksley RM.** (2007). Chitin induces accumulation in tissue of innate immune cells associated with allergy. *Nature,* 447(7140):92-U97-92-U97
- (109) **KIM S-K.**(2012). Chitosan and fish collagen as biomaterials for regenerative medicine - Biocompatibility and allergy. In: *Advances in Food and Nutrition Research Volume 65 Marine Medicinal Foods: Implications and Applications - Animals and Microbes.* Edited by Kim S-K: Elsevier, 523. pp (114-115) .
- (110) **MUZZARELLI RAA.** (2010). Chitins and Chitosans as Immunoadjuvants and Non-Allergenic Drug Carriers. *Mar Drugs,* , 8(2).pp292-312 .

- (111) **BRINCHMANN BC, BAYAT M, BROGGER T, MUTTUVELU DV, TJONNELAND A**, : A possible role of chitin in the pathogenesis of asthma and allergy. *Ann Agr Env Med*, 2011, 18(1):7-12
- (112) **LIAO FH, SHIEH MJ, CHANG NC, CHIEN YW.** (2007). Chitosan supplementation lowers serum lipids and maintains normal calcium, magnesium, and iron status in hyperlipidemic patients. *Nutrition Research*, , 27(3):pp146-151.
- (113) **JUNG WK, MOON SH, KIM SK.** (2006).Effect of chitooligosaccharides on calcium bioavailability and bone strength in ovariectomized rats. *Life Sci*, , 78(9).pp970-976.
- (114) **SHAHIDI F, ARACHI JKV, JEON YJ.**(1999). Food applications of chitin and chitosans. *Trends Food Sci Technol*, , 10(2). pp37-51.
- (115) **RABEA EI, BADAWY MET, STEVENS CV, SMAGGHE G, STEURBAUT W.**(2003). Chitosan as antimicrobial agent: Applications and mode of action. *Biomacromolecules*, 4(6):pp1457-1465
- (116) **KIM HJ, CHEN F, WANG X, RAJAPAKSE NC.**(2005). Effect of chitosan on the biological properties of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *J Agric Food Chem*, , 53(9): pp3696-3701.
- (117) **HSIEN TY, RORRER GL.**(1995). Effects of acylation and cross-linking on the material properties and Cadmium ion adsorption capacity of porous chitosan beads. *Sep Sci Technol*, 30(12).pp2455-2475.
- (118) **DORNENBURG H, KNORR D.**(1994). Elicitation of chitinases and anthraquinones in morinda-citrifolia cell-cultures. *Food Biotechnology*, 8(1).pp 57-65
- (119) **PETER MG.**(1995) . *JMS Pure Appl Chem* 32. p629.
- (118) **RHEE JS, JUNG MW, PAENG KJ.**(1998). Evaluation of chitin and chitosan as a sorbent for the preconcentration of phenol and chlorophenols in water. *Anal Sci*, 14(6): pp1089-1092.
- (120) **CRINI G.**(2006) . *Bioresour Technol* 97.p41.
- (121) **KRAJEWSKA ,B.** (2005). *sep Purif Technol* 41. p 305 .
- (122) **TABOADA E, CABRERA G, CARDENAS G.** (2003). Retention capacity of chitosan for copper and mercury ions. *J Chil Chem Soc* , 48(1):pp 7-12.
- (123) **CAMCI-UNAL G, POHL NLB.**2010. Thermodynamics of binding interactions between divalent copper and chitin fragments by isothermal titration calorimetry (ITC). *Carbohydr Polym*, , 81(1): pp8-13.
- (124) **SKORIK YA, PESTOV AV, YATLUK YG.** (2010). Evaluation of various chitin-glucan derivatives from *Aspergillus niger* as transition metal adsorbents. *Bioresour Technol*, , 101(6): pp1769-1775.
- (125) **GUIBAL E, ROUSSY J, LECLOIREC P.**(1996). Photochemical reaction of uranium with glucosamine, acetylglucosamine and related polymers: Chitin and chitosan. *Water SA*, , 22(1):pp19-26

(126) **YAP J, ISA MH, KUTTY SRM** (2008). Removal of colour from textile wastewater using oil palm ash.

(127) **MIAO YQ, TAN SN** .(2000). Amperometric hydrogen peroxide biosensor based on immobilization of peroxidase in chitosan matrix crosslinked with glutaraldehyde. *Analyst*, 125(9):pp1591-1594.

(128) **LU LM, ZHANG L, ZHANG XB, WU ZS, HUAN SY, SHEN GL, Yu RQ**.(2010). A MgO Nanoparticles Composite Matrix-Based Electrochemical Biosensor for Hydrogen Peroxide with High Sensitivity. *Electroanalysis*, 22(4):pp471-477.

(129) **MACQUARRIE DJ, HADY JJE** .(2009). *Ind Eng Chem Res* 44.

(130) **KARINE LE ROUX**.(2012). Purification de la chitine par hydrolyse enzymatique à partir de coproduits de crevette *Penaeus vannamei*. Caractérisations des produits et optimisation du procédé. Université de Nantes. pp 22-23.