

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة أبو بكر بلقايد – تلمسان
Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEN
كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de l'Univers
Département De Biologie



MÉMOIRE

Présenté par

- M^{lle} HAFFAF Ikram
- M^{me} KHERRAFI Fatima Zohra

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

Sécurité Agroalimentaire et Assurance Qualité

Thème

Extraction du chitosane et de la propolis, étude de leur effet antibactérien

Soutenu le 16/06/2022, devant le jury composé de :

Président	M ^f AZZI Nour Eddine	MAA	Université de Tlemcen
Encadreur	M ^{me} YUCEFI Fatma	MCA	Université de Tlemcen
Co-Encadreur	M ^{lle} OUAHAB Linda	Doctorante	Université de Tlemcen
Examineur	M ^f TEFIANI Choukri	MCA	Université de Tlemcen

Année universitaire 2021/2022

Avant toute chose, nous tenons à remercier « *Dieu* » qui nous a donné la force et la volonté pour terminer ce modeste travail.

Nous souhaitons remercier en tête de liste notre encadreur Madame Fatma YUCEFI Maitre de conférence à l'Université Abou Bakr Belkaïd de Tlemcen pour nous avoir offert l'opportunité de travailler sur ce sujet de mémoire sous sa direction et pour l'intérêt qu'elle lui a accordé, son grand support et ses conseils qu'elle n'a cessé de nous prodiguer en mesure de répondre à nos nombreux questionnements durant ces mois derniers de travail nous ont été d'une précieuse aide. Nous souhaitons la remercier tout particulièrement pour le fait qu'elle a veillé à nous fournir l'environnement adéquat de travail et tout ce dont nous avons besoin lors de nos expérimentations.

Nous remercions profondément, Monsieur Nour Eddine AZZI, Maitre assistant à l'Université Abou Bakr Belkaïd de Tlemcen qui a bien voulu nous faire l'honneur de juger ce travail en étant Président.

Nous sommes très heureux que Monsieur Choukri TEFIANI, Maitre de conférence à l'Université Abou Bakr Belkaïd de Tlemcen ait accepté de participer à ce jury et nous tenons à lui exprimer nos remerciements les plus sincères.

Nous tenons aussi à accorder nos vifs et sincères remerciements à notre co-encadreur, Mademoiselle Linda OUAHAB pour son support, son dévouement et ses conseils ainsi que pour avoir partagé une partie de ses multiples connaissances et de son expérience.

Nous voudrions exprimer notre gratitude et remerciement à Messieurs Amine LOUKILI et Boumediene SALHI, ingénieurs des Laboratoires de Biologie Moléculaire, Département de Biologie.

Enfin, nous voudrions remercier profondément nos familles respectives, nos proches et tous nos amis pour leurs soutiens durant la préparation de notre mémoire et pour leur précieux soutien et encouragement au jour le jour tout le long de notre cursus. Qu'ils trouvent, dans la réalisation de ce travail, l'aboutissement de leurs efforts et l'expression de notre énorme et affectueuse gratitude.



Je dédie ce travail,

A mes parents, qui m'ont beaucoup donné. Merci pour votre soutien et votre amour, sans vos encouragements et votre investissement, je ne serai pas là.

A ma très chère sœur Nihel, d'être toujours là pour moi, de me soutenir et de m'aimer du plus profond de son grand cœur, qu'elle sache que je l'aime aussi plus que tout au monde, celle qui a mis au monde les deux petits bisounours adorés et portes bonheur de leur tante ma Lina et mon Malik qui ont fait beau temps dans mon cœur et ma vie...

A mes deux grands-mères, un grand respect et amour à vous, vous avez été toujours là pour moi avec vos mots vos encouragements et vos conseils si précieux. Qu'Allah vous protège et vous garde pour nous.

A ma deuxième sœur Fatima Zohra que je remercie infiniment pour ces années universitaires passées ensemble, je me rappellerai toujours de tous nos bons moments.

A tous ceux qui m'aiment et ceux que j'aime !



Je dédie ce modeste travail :

À mes parents,

Qui ont su me donner les ailes nécessaires pour réussir mon envol dans la vie, pour tous leurs sacrifices, leurs encouragements, leurs soutiens, leurs précieux conseils et leurs prières durant toute ma vie. Tous les mots ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte. Ce mémoire leur est dédié.

À mon mari NAIMI Mohammed Amine que je remercie énormément pour sa patience durant cette période, de me donner le courage, le soutien, l'amour et l'espoir et au petit bout qui est en moi que j'aime profondément avant même de le rencontrer, merci mon fils de m'avoir accompagné le long de ces derniers mois de travail.

À mon unique chère frère Mohammed Abdelbassit ma fierté. Merci pour l'amour, la joie et l'humour que tu m'apportes ! Et surtout merci de m'avoir supporté durant cette année. Que Dieu vous protège et vous offre la chance et le bonheur et beaucoup de réussites dans votre vie.

À mes beaux-parents, merci pour votre investissement et votre soutien dans mon parcours.

À mon binôme et très chère amie IKRAM je te remercie pour tous les bons moments qu'on a passés ensemble et pour tout le soutien.

Fatima Zohra

ملخص :

الهدف من هذا العمل هو إعداد بروتوكول تجريبي لاستخراج الشيتوزان و العكبر وإثبات قوتهما المضادة للبكتيريا بالإضافة إلى قوة التركيبة (شيتوزان / عكبر). أظهرت النتائج أن المستخلصات المختلفة من الشيتوزان E1₅ و E1₃ و E2 و E3 تم نزع المعادن منها بشكل صحيح مع معدل رماد إجمالي أقل بكثير من 1%، مشيراً إلى أن E3 قد تم نزع المعادن منه تمامًا وأن ذوبانه كان ملحوظاً عند 1% في حمض الخليك تركيزه 1.5%. كان مردود الكيتين والشيتوزان لهذه المستخلصات في حدود 34%، 19.35%، 22.78% و 20.13% و 38.24%، 75.20%، 93.76% و 97.24% على التوالي، بينما قدر مردود المستخلص الإيثانولي للعكبر بـ 17.85%. كشفت التجارب أن E2 و E3 النقيين يظهران نشاطاً مضاداً للبكتيريا بأقطار تثبيط تصل إلى 11.52 ± 1.36 مم و 12.84 ± 1.63 مم للمكورات العنقودية الذهبية و 11.97 ± 0.16 مم و 15.77 ± 0.79 مم للإشريكية القولونية على التوالي مع 0.5MICs و 2% للمكورات العنقودية الذهبية وللإشريكية القولونية على التوالي بليغة للمستخلص E3. العكبر قدم قوة مضادة للجراثيم لبكتريا المكورة العنقودية الذهبية بأقطار تثبيط 14.95 ± 0.45 مم، 14.58 ± 0.95 مم، 13.96 ± 0.83 مم، 13.82 ± 1.12 مم و 11.12 ± 0.81 مم للتراكيز (6%، 8%، 10%، 12% و 40% من العكبر). تم الكشف عن التأثير المشترك (E2 + Ch. Pro) لبكتيريا المكورات العنقودية الذهبية بأقطار هالة تثبيط ضئيلة تتراوح من 2.41 ± 0.09 مم إلى 6.18 ± 0.58 مم مع MICs بنسبة 25% / 75% (شيتوزان / دنج) لكل من البكتيريا المسببة للأمراض العنقودية الذهبية والإشريكية القولونية.

الكلمات المفتاحية : إعادة التدوير، الاقتصاد الدائري، التنمية المستدامة، الإستخلاص، الشيتوزان، العكبر، التعاضد، التأثير المضاد للبكتيريا.

Résumé :

L'objectif de ce travail est de mettre en place un procédé d'extraction de chitosane et de propolis et de démontrer leurs pouvoirs antibactériens ainsi que celui du combiné (chitosane / propolis). Les résultats ont montrés que les différents extraits de chitosane E1₅, E1₃, E2 et E3 ont correctement été déminéralisés avec un taux de cendres totales largement inférieure à 1% marquant qu'E3 l'a été totalement et sa solubilisation était remarquable à 1% dans de l'acide acétique à 1,5%. Les rendements de chitine et de chitosane de ces extraits ont été de l'ordre de 34%, 19,35%, 22,78% et 20,13% et de 38,24%, 75,20%, 93,76% et 97,24% respectivement et celui de l'extrait éthanolique de la propolis été estimé à 17,85%. Les expérimentations révèlent qu'E2 et E3 purs, présentent une activité antibactérienne avec des diamètres d'inhibition de l'ordre de 11,52 ± 1,36 mm et 12,84 ± 1,63 mm pour *S. aureus* et de 11,97 ± 0,16 mm et 15,77 ± 0,79 mm pour *E. coli* respectivement avec des CMI de 0,5% et 2% pour *S. aureus* et *E. coli* significatives à E3. La propolis a présenté un pouvoir antibactérien pour *S. aureus* avec des diamètres d'inhibition de 14,95 ± 0,45 mm, 14,58 ± 0,95 mm, 13,96 ± 0,83 mm, 13,82 ± 1,12 mm et 11,12 ± 0,81 mm pour les concentrations (6%, 8%, 10%, 12% et 40% de propolis). L'effet combiné (Ch. E2 + Pro) a relevés pour *S. aureus* des diamètres d'halos

d'inhibition négligeables allant de $2,41 \pm 0,09$ mm à $6,18 \pm 0,58$ mm avec des CMI de 25 % / 75 % (chitosane / propolis) pour les deux pathogènes *S. aureus* et *E. coli*.

Mots clés : recyclage, économie circulaire, développement durable, extraction, chitosane, propolis, synergie, effet antibactérien.

Abstract :

The objective of this work is to set up an extraction process of chitosan and propolis and to demonstrate their antibacterial powers as well as that of the combined (chitosan / propolis). The results showed that the different extracts of chitosan E1₅, E1₃, E2 and E3 were correctly demineralized with a total ash rate largely lower than 1% marking that E3 was totally demineralized and its solubilization was remarkable at 1% in acetic acid at 1.5%. The chitin and chitosan yields of these extracts were in the order of 34%, 19.35%, 22.78% and 20.13% and 38.24%, 75.20%, 93.76% and 97.24% respectively and that of the ethanolic extract of propolis was estimated at 17.85%. The experiments reveal that pure E2 and E3, present an antibacterial activity with inhibition diameters of about 11.52 ± 1.36 mm and 12.84 ± 1.63 mm for *S. aureus* and 11.97 ± 0.16 mm and 15.77 ± 0.79 mm for *E. coli* respectively with MICs of 0.5% and 2% for *S. aureus* and *E. coli* significant at E3. Propolis exhibited antibacterial potency for *S. aureus* with inhibition diameters of 14.95 ± 0.45 mm, 14.58 ± 0.95 mm, 13.96 ± 0.83 mm, 13.82 ± 1.12 mm, and 11.12 ± 0.81 for concentrations (6%, 8%, 10%, 12% and 40% propolis). The combined effect (Ch. E2 + Pro) showed negligible inhibition halo diameters for *S. aureus* ranging from 2.41 ± 0.09 mm to 6.18 ± 0.58 mm with MICs of 25% / 75% (chitosan / propolis) for both *S. aureus* and *E. coli* pathogens.

Keywords : recycling, circular economy, sustainable development, extraction, chitosan, propolis, synergy, antibacterial effect.

- HCl : acide chlorhydrique.
- CO₂ : gaz dioxyde de carbone.
- NaOH : hydroxyde de sodium ou de potassium.
- DD : Degré de Désacétylation.
- NH³⁺ : groupement amino (ammoniac).
- VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine.
- fD : fraction de monomère glucosamine.
- ADN : acide désoxyribonucléique.
- SRAS-CoV-2 : agent étiologique du COVID 19.
- COVID 19 : maladie à coronavirus 2019.
- CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.
- CBM : Concentration Bactéricide Minimale.
- COX : enzyme cyclooxygénase.
- DPPH : 1,1 diphényl-2-pictylhydrazyle.
- OVA : ovalbumine.
- IgE : immunoglobulines E.
- IgG : immunoglobulines G.
- UFC : Unité Formant Colonie.
- BHI : Brain Heart Infusion.
- W_{TA} : Weight Total Ash.
- DMSO : diméthylsulfoxyde.
- MH : Mueller-Hinton.
- E1₅ : extrait de chitosane (Essai 1 (500 µm)).
- E1₃ : extrait de chitosane (Essai 1 (300 µm)).
- E2 : extrait de chitosane (Essai 2 (300 µm)).
- E3 : extrait de chitosane (Essai 3 (150 µm)).
- Ch : chitosane.
- Pro : propolis.
- ATB : antibiotique.
- A₆₀₀ : Absorbance à une longueur d'onde de 600 nm.
- A₆₃₀ : Absorbance à une longueur d'onde de 630 nm.
- Vol / vol : volume / volume.
- w/w : weight/weight.

Chapitre II : La propolis

<u>Tableau 1</u> : Constituants de la propolis (Alvarenga et al., 2021).....	21
<u>Tableau 2</u> : Description physico-chimique et sensorielle de la propolis (Alvarenga et al., 2021) ; (Forma & Brys, 2021) ; (Potier & La, 2014).....	22
<u>Tableau 3</u> : Effet antibactérien de divers propolis (Rivera-Yañez et al., 2021).....	24
<u>Tableau 4</u> : Quelques unes des utilisations thérapeutiques de la propolis en dentisterie.....	29
<u>Tableau 5</u> : Différentes utilisations de la propolis en cosmétique et en dermatologie (Kurek-Górecka et al., 2020).....	31
Chapitre III : Matériels et méthodes	
<u>Tableau 6</u> : Milieu de culture, température de croissance et temps d'incubation des souches utilisées.....	35
Chapitre IV : Résultats et discussion	
<u>Tableau 7</u> : Estimation de la teneur en cendres totales.....	43

Chapitre I : Le chitosane**Figure 1 :** Les différentes sources de la chitine (Maddaloni et al., 2020).....5**Figure 2 :** Structures chimiques de chitine et chitosane (Pal et al., 2021).....6**Figure 3 :** Applications pharmaceutiques récentes du chitosane (Shariatinia, 2019).....15**Figure 4 :** Correspondance de certaines propriétés biologiques du chitosane avec ses applications en biomédical (Pal et al., 2021).....16**Chapitre II : La propolis****Figure 5 :** Composants de la propolis (Przybyłek & Karpiński, 2019).....21**Figure 6 :** Différentes propriétés biologiques de la propolis.....23**Figure 7 :** Utilisations potentielles de la propolis en dentisterie (Zulhendri, Felitti, et al., 2021).....29**Chapitre III : Matériels et méthodes****Figure 8 :** Etapes de prétraitement de carapaces de crevettes (originales).....36**Figure 9 :** Production de chitine puis transformation en chitosane lors du deuxième essai (originales).....37**Figure 10 :** Etapes de dosage de la teneur en cendres totales (originales).....38**Figure 11 :** Etapes d'extraction de la propolis (originales).....39**Figure 12 :** Exemple de boîte de Pétri aux puits pour évaluation de la sensibilité des pathogènes envers nos extraits.....41**Figure 13 :** Différentes concentrations en chitosane et en propolis (originales).....41**Chapitre IV : Résultats et discussion****Figure 14 :** Chitine et chitosane du 2^{ème} essai (originales).....43**Figure 15 :** Résultat visuel de la calcination des différents extraits de chitosane (originale)..44**Figure 16 :** Estimation de la solubilisation par mesure de transmittance à 630 nm.....44

Figure 17 : Extrait ethnolique de propolis obtenu (originale).....	46
Figure 18 : Courbes de croissance et A_{600} de <i>S. aureus</i> ATCC 6538 de d' <i>E. coli</i> ATCC 8739 incubées en aérobiose dans un bouillon BHI à 37 °C.....	46
Figure 19 : Sensibilité d' <i>E. coli</i> ATCC 8739 et <i>S. aureus</i> ATCC 6538 à nos extraits de chitosane et propolis.....	48
Figure 20 : Diamètres représentatifs de la sensibilité de la souche <i>S. aureus</i> ATCC 6538 aux différentes concentrations de la propolis.....	48
Figure 21 : Microplaques post incubation pour la détermination des CMI (originales).....	49

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Résumés	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Table des matières	
Introduction	1
CHAPITRE I : Le chitosane	
I.1. Historique du chitosane	3
I.2. Définition du chitosane.....	3
I.3. De la chitine au chitosane	4
I.3.1. Définition de la chitine.....	5
I.3.2. Structure chimique de la chitine	5
I.3.3. Extraction du chitosane.....	6
I.3.3.1. Procédé chimique.....	6
I.3.3.2. Procédé biologique.....	7
I.4. Propriétés physico-chimiques du chitosane.....	8
I.4.1. Degrés de désacétylation DD.....	8
I.4.2. Viscosité.....	9
I.4.3. Solubilité	9
I.4.4. Masse moléculaire	10
I.5. Propriétés biologiques	10
I.5.1. Activité antibactérienne	10
I.5.2. Activité anti-oxydante.....	11
I.5.3. Activité antifongique	12
I.6. Effets fonctionnels et applications du chitosane.....	12
I.6.1. Effets et utilisation en Agriculture	13
I.6.2. Traitement des eaux usées	13
I.6.2.1. Elimination des ions de métaux lourds	13
I.6.2.2. Elimination d'autres polluants.....	14

I.6.3. Perspectives d'avenir pour l'utilisation des nanoparticules de chitosane dans les emballages alimentaires biodégradables	14
I.6.4. Effets et utilisations en pharmaceutique	14
I.6.5. Effets et utilisations en nutrition	15
I.6.6. Effet et utilisations en médecine	16
I.6.7. Effet et utilisation en Cosmétique.....	17
I.7. Autre application	17
I.7.1. Préparation des implants	17
I.7.2. Additif alimentaire	17
I.7.3. Application dans la conservation des aliments	18
I.7.4. Utilisation potentielle contre le COVID-19 !.....	18

CHAPITRE II : La propolis

II.1. Historique de la propolis	19
II.2. Définition de la propolis.....	19
II.3. Origine botanique de la propolis	20
II.4. Composition chimique de la propolis	20
II.5. Propriétés physico-chimiques de la propolis.....	21
II.6. Activités biologiques de la propolis	22
II.6.1. Propriété antibactérienne	23
II.6.2. Propriété antifongique	24
II.6.3. Propriété antivirale	25
II.6.4. Propriété anti-inflammatoire.....	25
II.6.5. Propriété anti-oxydante.....	26
II.6.6. Propriété anti-tumorale	26
II.6.7. Propriété immunomodulatrice	26
II.6.8. Propriété antiallergique.....	27
II.6.9. Propriété anesthésique	27
II.6.10. Effet digestif	27
II.7. Applications nutraceutiques et fonctionnelles de la propolis.....	27
II.7.1. Applications en médecine humaine	28
II.7.2. Applications en médecine vétérinaire.....	30
II.7.3. Applications en dermatologie et soins de la peau.....	30
II.7.4. Autres applications	32

II.8. COVID-19 le sujet d'actualité !	33
---	----

CHAPITRE III : Matériels et méthodes

III.1. Matériels	34
III.1.1. Origine et nature de la chitine	34
III.1.2. Origine et nature de la propolis	34
III.1.3. Souches pathogènes utilisées	34
III.1.4. Milieux de culture	35
III.2. Méthodes.....	35
III.2.1. Prétraitement des carapaces de crevettes	35
III.2.2. Extraction de chitine / chitosane	36
III.2.3. Solubilisation du chitosane produit.....	37
III.2.4. Mesure des paramètres physicochimiques des chitosanes extraits	37
III.2.4.1. Dosage du taux de cendres.....	37
III.2.4.2. Estimation du taux de solubilisation.....	38
III.2.5. Extraction de la propolis	39
III.2.5.1. Calcul du rendement de la propolis.....	40
III.2.6. Revivification et conservation des souches.....	40
III.2.7. Evolution de la cinétique de croissance bactérienne	40
III.2.8. Activité antibactérienne.....	41
III.2.8.1. Evaluation de la sensibilité des souches pathogènes aux extraits de chitosane et de la propolis.....	41
III.2.8.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	42

CHAPITRE IV : Résultats et discussions

IV.1. Rendement de chitine et de chitosane.....	43
IV.2. Paramètres physico-chimiques des extraits de chitosane	43
IV.2.1. Teneur en cendres totales (W_{TA}).....	43
IV.2.2. Taux de solubilisation du chitosane	44
IV.3. Rendement de la propolis	45
IV.4. Cinétique de croissance d' <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 et <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.....	46
IV.5. Résultats de l'activité antibactérienne	47

IV.5.1. Pouvoir antibactérien des extraits de chitosane et de la propolis mis en évidence par la méthode des puits	47
IV.5.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	49
Conclusion	51
Références bibliographiques	

Introduction

Le gaspillage alimentaire et parmi tous les types de déchets est considéré comme l'un des problèmes les plus préoccupants à surmonter dans le monde car ça aura un impact significatif sur tous les objectifs de développement durable (ODD). Les déchets alimentaires d'origine marine comprennent principalement les fruits de mer, le poisson et les ressources de production d'aliments pour animaux. À partir des crustacés commercialisés chaque année, 6 à 8 millions de tonnes de précieuses carapaces de crevettes, homards et/ou crabes sont produites dans le monde (**Acosta et al., 2022**).

Le niveau de vie des communautés côtières en Algérie est amendé par le biais de l'activité de pêche au rôle important dans le développement socio-économique, secteur stratégique au même titre que l'agriculture et la santé (**Zaimen et al., 2021**).

Les crevettes sont parmi les produits aquacoles les plus commercialisés (**FAO, 2020**), et tant de sources de production de chitine à l'origine de l'obtention du chitosane (**Santos et al., 2020**).

Le chitosane bio-polymère cationique a suscité un grand intérêt dans un passé récent principalement en raison de sa faible toxicité et de ses propriétés bio-adhésives. Sa charge positive permet la formation de complexes avec des molécules de charge opposée interagissant de ce fait facilement avec des composés de charge négative. De tels complexes peuvent être utilisés comme systèmes de délivrance pour incorporer un certain nombre de composés bioactifs pour réduire les bactéries.

De même, il a été prouvé que les flavonoïdes des extraits éthanoliques de la propolis détiennent également une propriété antibactérienne, d'où son utilisation par les abeilles pour protéger les ruches des infections et renforcer leur parois. C'est une substance résineuse et balsamique de couleur vert-brun, brun ou noir avec une saveur amère prononcée et un arôme doux et agréable. Elle est composée de : résine, baumes, huiles essentielles, flavonoïdes, phénols, composés aromatiques, cire, pollen, acides aminés, vitamines et de minéraux. Parallèlement à l'action désinfectante, la taille des nanoparticules joue un rôle important dans l'activité antibactérienne (**Parolia et al., 2020**).

Les matériaux polymères jouent un rôle important dans notre société moderne grâce à une gamme de propriétés uniques et adéquates pour la fabrication d'une large gamme de produits à faible coût, légers et performants fondamentaux pour le développement technologique et sociétal (**Cruz Sanchez et al., 2017**).

Notre travail est dirigé de façon à mettre en avant les bio-propriétés plus précisément l'activité antibactérienne du chitosane ainsi que celle de la propolis que nous allons extraire au cours de nos expérimentations.

Le choix de ces matières premières se résume en leur haute valeur nutraceutique non exploité jusqu'à présent dans notre territoire national. Ce mémoire est organisé autour de trois parties :

La première partie de cette étude aborde et expose les données bibliographiques relatives au chitosane ainsi qu'à la propolis.

La deuxième partie fait état de l'étude expérimentale exposant les méthodes appliquées lors de l'avancement de ce mémoire allant de l'extraction de chitosane et propolis.

La troisième partie rapporte et discute les résultats obtenus d'après le travail abouti.

*Synthèse
bibliographique*

Chapitre I
Le chitosane

I Le chitosane :

I.1 Historique du chitosane :

Il y a 200 ans déjà, la chitine un composé important a été découvert lors d'une recherche fortuite. En 1799, en traitant des carapaces de crabes et de crevettes avec de l'acétone et des acides nitriques dilués, Charles Hatchett a constaté que ces carapaces dures devenaient jaune pâle et moussaient après une période de traitement. Malheureusement, ce phénomène n'a pas été exploré en profondeur. En 1811, le chimiste Henri Braconnot directeur du Jardin botanique français a nommé la chitine fongine dans sa dissertation. En 1823, en traitant expérimentalement les hannetons avec un oxydant fort on a découvert que la matière insoluble dans l'alcali pouvait être séparée, et Auguste Odier l'a donc nommée chitine. Il pensait que la chitine était une substance spéciale qui était renouvelable dans les insectes et les plante. Historiquement, le chitosane était obtenu en traitant la chitine de différentes sources avec une solution iodée acidifiée. Charles Rouget a été le premier scientifique de l'histoire à décrire la désacétylation de la chitine. Cette découverte a ouvert des perspectives pour l'utilisation à grande échelle de la chitine. Cependant, Rouget a nommé le produit qu'il a trouvé comme étant de la chitine modifiée, et ce n'est qu'en 1894 que Felix Hoppe-Seyler a appelé ce dérivé comme étant du chitosane. Au 20^{ème} siècle, la recherche sur la chitine et le chitosane avait fait des progrès sans précédent. Les chercheurs ont découvert que la chitine était composée de glucosamine monosaccharide. Dans les années 1950, la première monographie sur la chitine et le chitosane a été publiée (Tian & Liu, 2020).

Le nom actuel " chitosane " a été mis au point par Felix Hoppe-Seyler, un physiologiste et chimiste allemand, qui a traité les traité des carapaces de différentes créatures (araignée, scorpion et crabe) avec de la potasse caustique à une température de 180 °C et a obtenu ce produit. Ce produit était soluble dans de l'acide chlorhydrique et l'acide acétique dilués (Shivakumar et al., 2021).

I.2 Définition du chitosane :

Le chitosane est un polysaccharide linéaire, copolymère d'unités (1→4)-liées de 2-amino-2-désoxy-β-D-glucopyranose (GlcN) et de 2-acétamido-2-désoxy-β-D-glucopyranose (GlcNAc). Bien que naturellement présent dans les champignons *Mucoraceae*, le chitosane est obtenu industriellement par N-désacétylation thermochimique de la chitine (Moussa et al., 2019). Il représente le deuxième polysaccharide le plus abondant après la cellulose que l'on trouve principalement dans le squelette des crustacés et des insectes ainsi que dans les parois cellulaires des bactéries.

En tant que ressource non toxique, biodégradable et biocompatible, le chitosane a attiré l'attention des chercheurs en raison de sa structure physico-chimique et de sa bio-activité unique (Wei et al., 2019).

I.3 De la chitine au chitosane :

Bien que les configurations de polysaccharides « chitosanes » existent naturellement dans certains micro-organismes, comme dans les parois d'ascospores de levure, le chitosane est principalement dérivé de la chitine extraite de déchets de l'industrie de la pêche (exosquelettes d'arthropodes, enclos à calmars, crustacés dont les crevettes et crabes) où les crevettes sont la cause la plus prédominante de réactions allergiques telles que l'anaphylaxie et le chitosane produit à partir de sous-produits de crevettes est également rapporté comme cause de réactions allergiques possibles par le biais de contamination par des protéines telle la tropomyosine libérée après ingestion.

Telle autre origine d'extraction de la chitine se présentent aussi les champignons mucoraux appartenant à la famille des Zygomycètes (espèces : Mucor, Absidia et Rhizopus) objet d'une attention croissante et moyen viable pour éviter les allergies alimentaires. En outre, l'approvisionnement en déchets de crustacés est limité par la saison et les sites de l'industrie de la pêche tandis que le mycélium fongique peut être obtenu par un processus de fermentation commode qui n'a pas de limitations géographiques ou saisonnières. Les champignons peuvent être facilement cultivés en laboratoire avec l'utilisation de nutriments bon marché, le matériau de paroi peut être récupéré en utilisant des procédures chimiques simples et la qualité constante et approvisionnement de la matière première est en effet possible (Perini et al., 2020) ; (Giraldo & Rivas, 2021).

D'après des études et essais d'un physiologiste et chimiste allemand tel cité au préalable, ce bio-polymère peut également être extrait des traités d'araignée, de scorpion et de crabe (Shivakumar et al., 2021). La figure 1 ci-dessous, illustre les différentes sources guises d'extraction de la chitine. Cependant, la réactivité chimique et biochimique des formes polymorphes du chitosane sera supérieure à celle de la chitine (la figure 2 illustre les structures chimiques de chitine et chitosane), en raison des groupes aminés libres répartis le long des chaînes du chitosane. Ces groupes aminés libres facilitent la solubilisation des chaînes de chitosane par leur ionisation en milieu acide (Giraldo & Rivas, 2021).

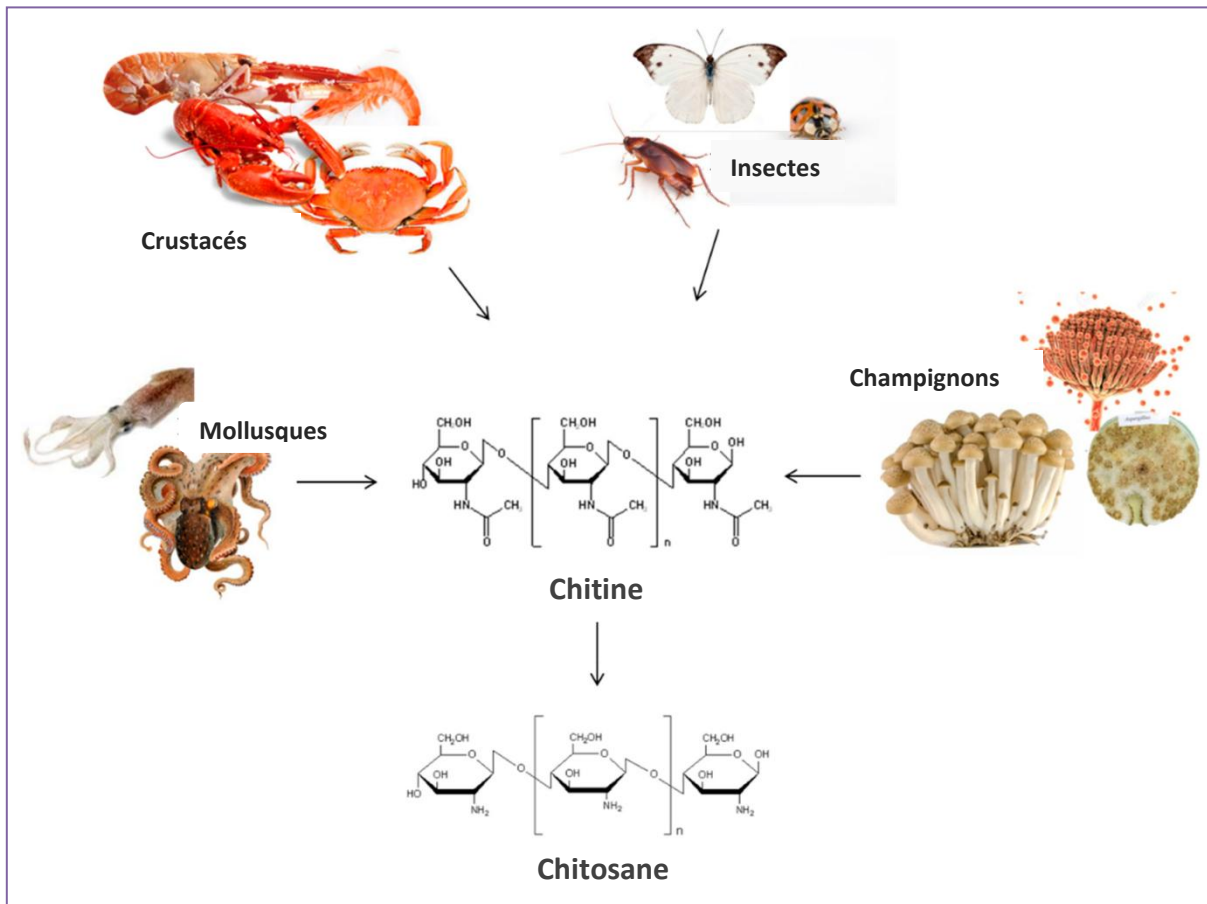


Figure 1 : Les différentes sources de la chitine (Maddaloni et al., 2020).

I.3.1 Définition de la chitine :

La chitine est le deuxième polysaccharide naturel le plus répandu après la cellulose sur terre. Il s'agit d'un homopolymère linéaire de poids moléculaire élevé d'unités de N-acétylglucosamine (N-acétyl-2-amino-2-désoxy-D-glucopyranose) à liaison β-(1,4). Le chitosane principal dérivé de la chitine est un copolymère d'unités glucosamine et N-acétylglucosamine liées par des liaisons 1-4glucosidiques. La chitine est le constituant majeur des carapaces des crustacés, des exosquelettes des insectes et des parois cellulaires des champignons où elle apporte force et stabilité (Singh et al., 2017).

I.3.2 Structure chimique de la chitine :

La formule moléculaire de la chitine est $(C_8H_{13}O_5N)_n$. Un polymère polysaccharide organique est fabriqué à partir de glucose modifié par un processus de cyclisation. La chitine est l'une des différentes formes de cellulose. C'est un polymère de N-acétyl-D-glucosamine, alors que la cellulose est un D-glucose. En outre, le pourcentage de la teneur en azote est plus élevé dans la chitine (6,89 %) que dans la cellulose (1,25 %) (Hossin et al., 2021).

Environ 16 % des unités de chitine présentes dans la nature sont désacétylées. Il existe trois formes polymorphes de chitine α , β et γ . La forme la plus abondante et la plus facilement accessible est l' α -chitine. Les molécules de chitine s'alignent de manière antiparallèle dans l' α -chitine ce qui permet une liaison hydrogène intermoléculaire maximale. Les molécules de chitine sont en revanche, parallèles dans la β -chitine ce qui est responsable des forces intermoléculaires plus faibles. La structure des formes α et β ne diffère que par le fait que les empilements de chaînes sont disposés de manière alternativement antiparallèle dans l' α -chitine, alors qu'ils sont tous parallèles dans la β -chitine. La forme γ -chitine possède des caractéristiques des formes α et β , où deux chaînes courent dans une direction et une autre chaîne dans la direction opposée. La γ -chitine n'est considérée que comme une variante de la famille α car elle possède les mêmes propriétés que l' α -chitine. L' α -chitine est la plus abondante et aussi la plus stable thermodynamiquement, et les formes β et γ -chitine peuvent être irréversiblement converties en forme α (Singh et al., 2017).

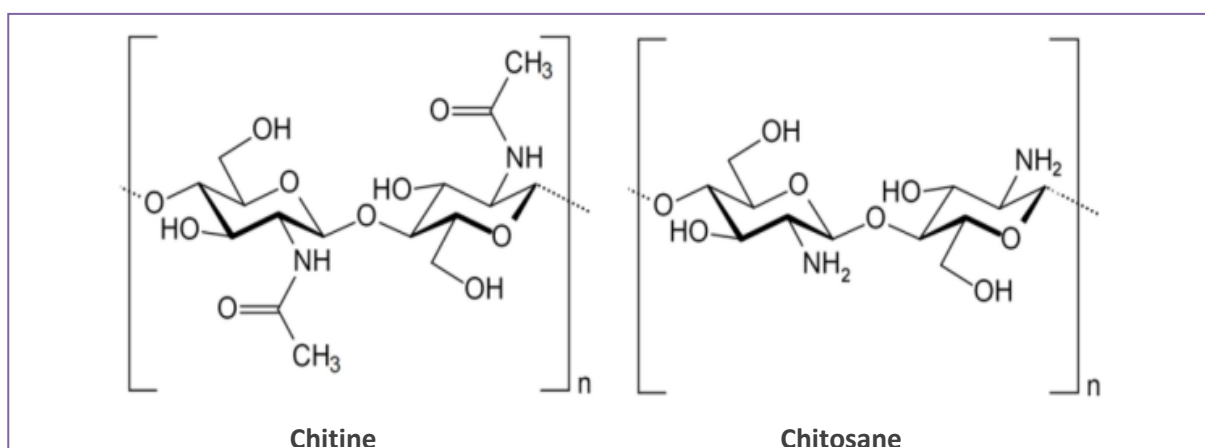


Figure 2 : Structures chimiques de chitine et chitosane (Pal et al., 2021).

I.3.3 Extraction du chitosane :

La chitine et le chitosane sont obtenus par deux types de procédés d'extraction : les méthodes chimiques et les méthodes biologiques. Les méthodes chimiques impliquent l'utilisation d'acides et de bases forts pour dissoudre respectivement les carbonates de calcium et les protéines (El Knidri et al., 2018).

I.3.3.1 Procédé chimique :

L'extraction par voie chimique consiste en l'utilisation d'une solution alcaline forte à des températures et des concentrations élevées provoquant la rupture des chaînes polymériques et établissant un haut degré de désacétylation du chitosane. Ce procédé compte

trois étapes de base : une déprotéinisation en solution alcaline, une déminéralisation en solution acide et une désacétylation. Il est à noter que toutes ces étapes sont directement liées aux propriétés physico-chimiques de la chitine obtenue (**Santos et al., 2020**).

- **Déminéralisation :**

Cette étape est réalisée dans une solution d'acide chlorhydrique diluée (HCl) consistant à éliminer le carbonate de calcium et le chlorure de calcium, principaux composés minéraux de l'exosquelette. Chlorure de calcium, qui constitue le principal composé inorganique de l'exosquelette des crustacés. Au cours de la réaction de digestion, l'émission de gaz dioxyde de carbone CO₂ est un indicateur plus ou moins important de la teneur en matières minérales. Les matières obtenues sont ensuite filtrées, lavées jusqu'à neutralité avec de l'eau distillée, puis sont séchées dans un four pendant une nuit (**El Knidri et al., 2018**).

- **Déprotéinisation :**

La déprotéinisation est réalisée par un traitement alcalin en utilisant une solution diluée d'hydroxyde de sodium NaOH pour éliminer les protéines. Le mélange est filtré, lavé plusieurs fois avec de l'eau dés-ionisée afin d'éliminer l'excès de NaOH. Puis séché à l'étuve pendant une nuit. Le produit obtenu est appelé chitine purifiée (**El Knidri et al., 2018**). Cependant, le traitement au NaOH conduit à l'hydrolyse du bio-polymère, à la diminution du masse moléculaire et à la désacétylation partielle de la chitine (**Pakizeh et al., 2021**).

- **Désacétylation :**

Cette étape consiste à transformer la chitine en chitosane par élimination du groupe acétyle. La préparation du chitosane est généralement réalisée par traitement avec une solution concentrée d'hydroxyde de sodium ou de potassium NaOH à température élevée. Après la réaction, la matière produite est lavée plusieurs fois avec de l'eau distillée jusqu'à neutralité et puis séché dans un four pendant une nuit (**El Knidri et al., 2018**).

I.3.3.2 Procédé biologique :

La méthode d'extraction biologique implique l'utilisation de micro-organismes qui produisent des enzymes et des acides organiques à un coût relativement faible avec un processus plus propre et plus écologique favorisant la production d'une chitine de qualité. Elle a été rendue plus attractive par l'obtention de produits de haute qualité, coût de production abordable ne générant pas d'effluents chimiques à forte concentration comparé au processus chimique (**Santos et al., 2020**). Ce procédé compte :

- La déprotéinisation enzymatique :

Celle des déchets de l'industrie de la pêche visant à obtenir des protéines hydrolysées est une méthode basée sur l'ajout d'enzymes pour la fragmentation des protéines ayant l'avantage d'une non production de produits dégradant de l'environnement, où les protéases (papaine, trypsine, pepsine, alcalase et pancréatine) sont de la plus haute importance dans le processus d'élimination des protéines des résidus de fruits de mer lors de l'extraction de la chitine (Santos et al., 2020).

- La fermentation :

Les protéines hydrolysées peuvent être obtenues par les enzymes protéolytiques produites par les bactéries lactiques activées en raison d'un faible pH du milieu, l'avantage de ce procédé se résume en la récupération de sous-produits à valeur ajoutée tels que les protéines, les enzymes et les pigments pouvant être appliqués dans l'industrie alimentaire.

L'efficacité de la fermentation par les microorganismes dépend directement de la quantité d'inoculum, de la concentration en glucose dans le milieu, du pH pendant la culture et du temps de fermentation. Ce type d'extraction à l'aide de microorganismes devient une tendance pour les recherches en biotechnologie et en bioremédiation (c'est-à-dire biodégradation stimulée des polluants joints à des substances organiques). Elle peut être réalisée par des bactéries productrices de protéases dont : *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas maltophilia* et *Serratia marcescens* (Santos et al., 2020).

I.4 Propriétés physico-chimiques du chitosane :

I.4.1 Degrés de désacétylation DD :

Le chitosane est soluble dans des conditions acides et reste en solution tant que le pH reste inférieur à 6 - 6,5. Cependant, lorsque le pH est élevé au dessus de 6,5, la plupart des chitosanes deviennent insolubles produisant une précipitation inconvénient majeur pour les applications biomédicales où une solution aqueuse est presque toujours essentielle et cela a entravé l'utilisation clinique du chitosane. Pour augmenter la solubilité du chitosane au pH physiologique il est possible de faire varier deux autres paramètres clés : le poids moléculaire et la distribution des groupes acétyles restants (Moran et al., 2018).

En outre, le degré de désacétylation (DD) du polymère de chitosane est un déterminant important de sa biodégradabilité. Il a été démontré qu'il est dégradé par une variété d'enzymes y compris les chitinases, les chitosanases et le plus souvent les lysozymes. Des études ont montré que les lysozymes ciblent sélectivement les groupes acétyles contenant du chitosane

de sorte que les polymères de chitosane avec un DD élevé ont une vitesse de dégradation plus lente que ceux avec un faible DD (fortement acétylé) sont rapidement dégradés. Le DD d'un polymère de chitosane peut être directement corrélé au nombre de charges positives qu'il peut héberger (une augmentation du DD étant proportionnelle à une augmentation de la positivité). Comme les composants de la surface cellulaire sont pour la plupart chargés négativement, les interactions entre les polymères de chitosane et les cellules sont à la fois fortes et rapides. Par conséquent, on pourrait postuler que plus un polymère de chitosane est chargé positivement, plus cette interaction sera forte (**Moran et al., 2018**).

I.4.2 Viscosité :

La viscosité des polymères est un paramètre d'un grand intérêt d'un point de vue technologique car les solutions très visqueuses sont difficiles à gérer. C'est une méthode simple et rapide même si ce n'est pas une méthode absolue. Elle représente le niveau de solides ainsi que le degré d'hydrolyse et d'émulsification des solutions. Par conséquent, la viscosité du chitosane augmente avec l'augmentation du poids moléculaire. En fait, elle peut être utilisée pour déterminer la stabilité du polymère en solution car une réduction est observée lors du stockage du polymère en raison de sa dégradation (**Liu et al., 2020**) ;(**Aranaz et al., 2021**).

I.4.3 Solubilité :

La solubilité de chaque chitosane a été définie comme la teneur en solide soluble dans l'eau (p/v) dans la solution de test et dépend de différents facteurs tels que le poids moléculaire du polymère, le degré d'acétylation, le pH, la température et la cristallinité du polymère (**Aranaz et al., 2021**). Elle est mesurée par l'équation suivante (**Chang et al., 2015**) :

$$S = 50 - m/V$$

Avec :

S : Solubilité en (mg / ml)

La valeur cinquante est en (mg)

m : poids sec du solide insoluble en (mg)

V : Volume de l'échantillon égal à 5 ml.

Le chitosane par rapport à la chitine peut être facilement solubilisé dans certains acides dilués (solutions acides polaires uniquement car il possède des propriétés de cristallinité élevées) dépendant des types (minéraux ou organiques) et de la concentration des

acides utilisés (Hazmi et al., 2021). Il est généralement soluble dans des solutions d'acide : acétique à 1% au pH avoisinant 4 par protonation du groupe amino NH^{3+} provoquant une répulsion électrostatique entre les chaînes polymères du chitosane ce qui rend la solubilité correspondante du sel de chitosane, formique (0,2–100 %), chlorhydrique à 1 % au pH allant jusqu'à 6,5 (nombre décri de groupes N-acétylés et de ses groupes amino primaires), lactique, glutamique et l'acide nitrique dilué. Par ailleurs, il se présente tel insoluble dans les acides sulfuriques et phosphoriques (Zhang & Yang, 2021 ; Casadidio et al., 2019).

I.4.4 Masse moléculaire :

La masse moléculaire du chitosanes a été déterminée par chromatographie liquide haute performance à exclusion de taille (SE-HPLC) (Chang et al., 2015). Il a été signalé que plus sa masse moléculaire est faible, plus il y aura élévation en différences de couleur et en solubilité du film (Jiang et al., 2020).

I.5 Propriétés biologiques :

En raison de l'abondance et de l'activité des groupes amino et hydroxyle, le chitosane possède une gamme impressionnante d'avantages notamment la non-toxicité, la biodégradabilité, la résistance à la corrosion et l'activité antibactérienne (Cao et al., 2019).

I.5.1 Activité antibactérienne :

La résistance aux antimicrobiens est une nouvelle menace pour la santé, la vie et la sécurité alimentaire qui nécessite une action mondiale concertée pour être surmontée (Hussein et al., 2021).

Le traitement des infections bactériennes, en particulier celles acquises à l'hôpital soulève de sérieuses préoccupations liées au développement rapide du phénomène de résistance aux antibiotiques et à la propagation rapide de souches multi-résistantes ce qui entraîne une limitation drastique des options thérapeutiques. Les espèces bactériennes qui présentent un grand intérêt à l'heure actuelle sont celles qui ont la capacité d'acquérir une résistance par différents mécanismes de transfert génétique tels que la transformation, la conjugaison, la transduction et les éléments génétiques mobiles parmi ces espèces présentant un intérêt particulier sont *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus spp* de la famille des Enterobacteriaceae, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter spp* (Confederat et al., 2021).

Compte tenu de ces aspects, il existe une pression accrue pour développer de nouveaux agents antibactériens actifs contre les souches résistantes ou pour valoriser l'activité antimicrobienne des composés naturels. Le chitosane est un polymère naturel avec un large

spectre antibactérien incluant les souches bactériennes Gram-positives et Gram-négatives. Il s'est avéré actif contre *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Listeria monocytogenes*, *Lactobacillus brevis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens* et *Salmonella typhimurium*.

L'activité antimicrobienne du chitosane contre une variété de bactéries est bien connue mais elle est également limitée par sa faible solubilité qui s'explique par sa structure cristalline rigide. Cependant, la présence de groupes amino libres offre la possibilité de dériver le chitosane par diverses réactions chimiques contrôlées, obtenant ainsi des composés plus solubles. Les modifications apportées à sa structure telles que la quaternisation et la substitution hydrophile augmentent la solubilité. Les dérivés du chitosane ont été incluses dans une série d'études démontrant une activité antimicrobienne beaucoup plus élevée que le chitosane inchangé à pH 7 contre diverses bactéries telles que *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (Confederat et al., 2021).

I.5.2 Activité anti-oxydante :

Les êtres humains subissent l'impact de nombreux radicaux libres provenant à la fois de l'intérieur de leur corps et de leur environnement en particulier les espèces réactives de l'oxygène générées dans les organismes vivants au cours du métabolisme. Le stress oxydatif peut provoquer l'activation involontaire d'enzymes et des dommages oxydatifs aux macromolécules cellulaires conduisant à de nombreux troubles de la santé notamment des maladies cardiovasculaires et inflammatoires, vieillissement, diabète sucré, neuro-dégénératives et cancer. Les antioxydants tels que le chitosane et ses dérivés sont bien connus pour piéger les radicaux libres ou prévenir les dommages en interrompant la réaction en chaîne de l'oxydation dans le corps humain (Ngo et al., 2015).

Il a été démontré que les propriétés anti-oxydantes dépendent du degré de désacétylation (DD) et de la concentration du polymère. Les groupes amino primaires dans la structure du chitosane jouent un rôle important en interagissant avec les radicaux libres formant des groupes NH^{3+} . Parmi les quatre formes de groupements aminés se trouvent les groupements aminés primaires, groupements imino, groupements aminés secondaires ainsi que les groupements aminés quaternisés, ces derniers ont démontré une activité anti-oxydante impressionnante vis-à-vis des radicaux hydroxyles. En particulier, le chitosane de bas poids moléculaire dés-acétylé a des propriétés anti-oxydantes au pouvoir d'être considéré comme tel antioxydant naturel (Confederat et al., 2021).

I.5.3 Activité antifongique :

Les méthodes chimiques telles que l'utilisation de fongicides synthétiques sont couramment employées pour contrôler la croissance des champignons pathogènes et la contamination par les mycotoxines dans les produits agricoles. Cependant, l'utilisation de fongicides chimiques est de plus en plus restreinte en raison des préoccupations du public concernant les résidus chimiques dans les aliments et l'environnement cette utilisation prolongée de fongicides entraîne la prolifération de la résistance dans les populations des pathogènes (Meng et al., 2020).

Les infections fongiques avec une incidence croissante dans le monde représentent une préoccupation sérieuse en particulier chez les patients immunodéprimés y compris les catégories suivantes : diabète, infection par le VIH, différents néoplasmes, thérapie immunosuppressive et hospitalisation prolongée dans les unités de soins intensifs. Qu'elles surviennent en primo-infection ou en surinfection après une maladie infectieuse virale ou bactérienne, les infections fongiques posent des problèmes liés aux options thérapeutiques et l'évolution est souvent défavorable (Confederat et al., 2021).

Les espèces fongiques les plus fréquemment impliquées dans la pathologie humaine appartiennent aux genres *Candida*, *Aspergillus*, *Cryptococcus* et *Pneumocystis*, étant responsables de plus de 90 % des décès rapportés dus à des infections fongiques. Les problèmes concernant le traitement de ces infections sont liés au peu d'options thérapeutiques disponibles et à la toxicité relativement élevée des médicaments existants. De plus, le phénomène de résistance aux antifongiques est de plus en plus fréquent et limite drastiquement l'utilisation des médicaments disponibles. Compte tenu de ces aspects, le développement de nouveaux agents antifongiques avec un profil de sécurité plus favorable présente un intérêt significatif.

Le chitosane s'est avéré une activité antifongique importante même si les mécanismes d'action sont moins étudiés que ceux impliqués dans l'activité antibactérienne. Sur la base des données disponibles, les champignons semblent être plus sensibles à l'activité antimicrobienne du chitosane que les bactéries, son activité antifongique dépend de plusieurs facteurs (poids moléculaire, degré de désacétylation, concentration en chitosane et pH) (Confederat et al., 2021).

I.6 Effets fonctionnels et applications du chitosane :

Les propriétés et les applications possibles des solutions de chitosane dépendent de paramètres tels que le degré de désacétylation (ou la fraction de monomère glucosamine fD),

le motif de désacétylation, la masse molaire et l'indice de polydispersité. Ces paramètres doivent toujours être pris en compte lorsque des applications de ce polymère sont rapportées. En outre, d'autres facteurs, tels que le degré d'ionisation, doivent également être pris en compte lors de l'utilisation de solutions de chitosane (**Giraldo & Rivas, 2021**).

I.6.1 Effets et utilisation en Agriculture :

Les études sur l'utilisation des nanoparticules de chitosane pour des applications agricoles ont augmenté rapidement motivées par le besoin de produits agrochimiques durables et écologiques tels que les engrais et les pesticides. Comme en médecine, les nanoparticules de chitosane sont principalement utilisées comme nano-carriers qui améliorent la stabilité des ingrédients actifs et comme moyen de créer une libération contrôlée (**Perez & Francois, 2016**). Grâce à ces effets, les produits agrochimiques peuvent être appliqués à des doses plus faibles où moins de traitements seront nécessaires ce qui réduit le risque de contamination de l'environnement et les effets toxiques sur d'autres organismes non ciblés (**Chen & Zeng, 2018**).

I.6.2 Traitement des eaux usées:

L'absence d'un sorbant rentable, durable et efficace comme alternative au charbon actif largement utilisé a motivé l'étude d'alternatives biosourcées. Le chitosane comprend des groupes fonctionnels amino et hydroxyle ce qui rend ces nanoparticules intéressantes pour l'élimination d'une gamme de polluant (métaux lourds, pesticides et colorants). En outre, les nanoparticules peuvent présenter une capacité supérieure à celle des sorbants de taille microscopique conventionnellement utilisés en raison de leur surface plus élevée (**Yanat & Schroën, 2021**).

I.6.2.1 Élimination des ions de métaux lourds :

La coagulation et la floculation des substances ioniques et des particules chargées dans les eaux usées ont été efficacement réalisées à l'aide de polymères naturels tout en diminuant la dépendance vis-à-vis des poly-électrolytes synthétiques. La chitine, le chitosane et leurs molécules dérivées ont été exploités comme coagulants/floculants naturels et écologiques pour éliminer diverses particules chargées telles que les colorants et les ions métalliques des eaux usées (**Nasrollahzadeh et al., 2021**).

Le chitosane et ses dérivés présentent un caractère cationique en milieu acide qui facilite leur dissolution et permet des interactions d'échange d'ions ou une attraction électrostatique avec divers caractères anioniques tandis que dans les milieux neutres les

groupes amino non protonés accélèrent la complexation des ions métalliques et des molécules organiques (Nasrollahzadeh et al., 2021).

I.6.2.2 Élimination d'autres polluants :

L'adsorption des pesticides sur des matériaux à faible coût pourrait aider à assainir efficacement les eaux contaminées en particulier les nanomatériaux, les nanosorbants et les adsorbants à base de polysaccharides qui sont très performants pour éliminer les pesticides des masses d'eau comme l'illustre la chitine et le chitosane pour la biosorption des pesticides. En effet, la présence de groupes hydroxyles dans chitine/chitosane détermine sa conformation et aussi la stéréochimie des transformations chimiques et la cinétique. À cet égard, le chitosane a éliminé plus de 90 % de l'oxadiazon (herbicide) des solutions aqueuses (observation d'une forte liaison de l'oxadiazon au chitosane : chimisorption). De plus, 76,2 % de l'atrazine (herbicide) a pu être éliminé avec une capacité d'adsorption maximale de 17.92 mg.g⁻¹ des solutions aqueuses par le chitosane/sépiolite modifié (Nasrollahzadeh et al., 2021).

I.6.3 Perspectives d'avenir pour l'utilisation des nanoparticules de chitosane dans les emballages alimentaires biodégradables :

Les plastiques à base de pétrole représentent un défi sociétal qui en préoccupe plus d'un. D'une part, les matériaux polymères présentent d'excellentes propriétés notamment en termes de résistance par rapport à la quantité de matériau utilisée, d'autre part, le nombre de ces plastiques incorrectement éliminés, crée un énorme problème environnemental qui s'applique également aux biomatériaux s'ils ne se dégradent pas dans un délai acceptable. Pour une dégradation standard des plastiques, le temps devrait être exprimé en termes de siècles (Yanat & Schroën, 2021).

I.6.4 Effets et utilisations en pharmaceutique :

Récemment, les supports pharmaceutiques tels que les polymères, les micelles, les liposomes et les nanoparticules ont fait l'objet d'une attention accrue. Ces systèmes présentent de nombreux avantages notamment une efficacité et une sécurité accrue des médicaments. Ces systèmes peuvent incorporer des composés actifs hydrophobes et hydrophiles ce qui dépend de la nature du support. De plus, ils peuvent offrir une plus grande stabilité aux produits thérapeutiques contre la dégradation chimique et enzymatique, une influence plus longue du médicament dans le tissu cible, une biodisponibilité supérieure et un ciblage du médicament par l'inclusion de ligands spécifiques (Yanat & Schroën, 2021).

Les applications pharmaceutiques les plus récentes du chitosane dans divers domaines biomédicaux (cicatrisation, encapsulation cellulaire, ...etc.) sont regroupées dans la figure 3.

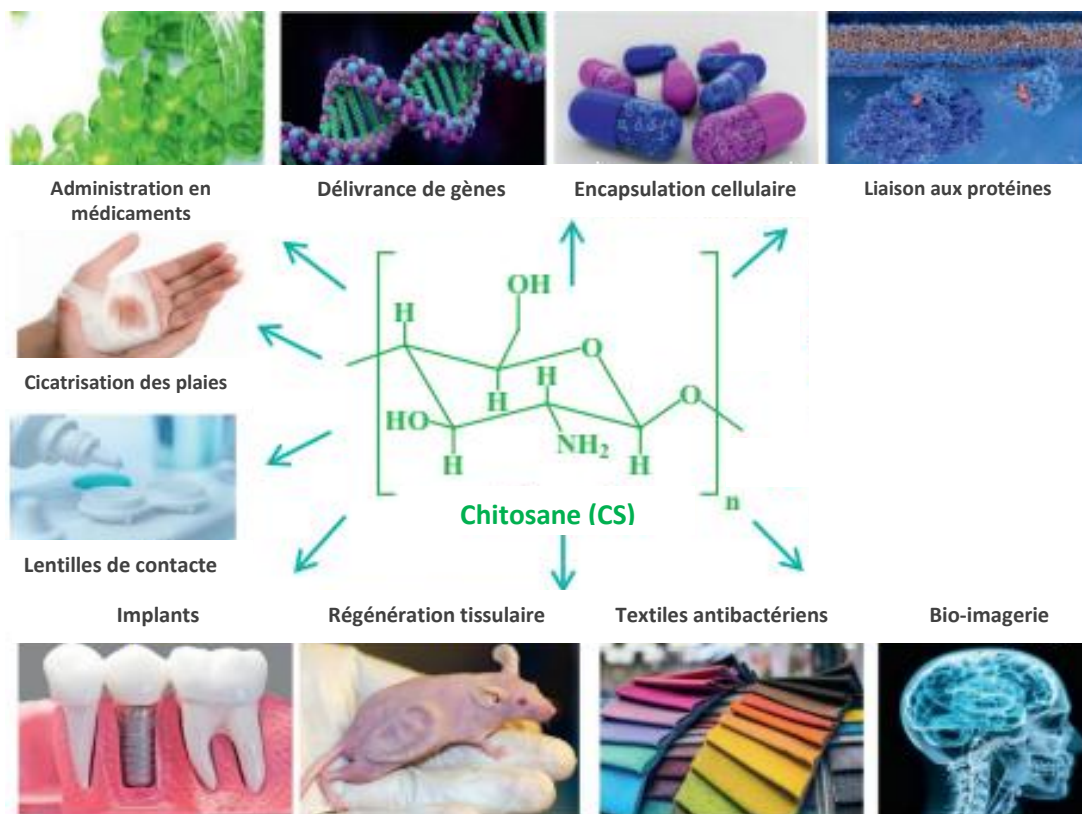


Figure 3 : Applications pharmaceutiques récentes du chitosane (Shariatnia, 2019).

I.6.5 Effets et utilisations en nutrition :

Le chitosane a la capacité d'améliorer la biodisponibilité dans les tissus extra-intestinaux en réduisant la consommation d'oxygène ainsi que l'absorption des acides aminés alimentaires. Il représente une gamme significativement large de propriétés biologiques lui conférant un potentiel possible pour une variété d'utilisations commerciales. Cette revue démontre que l'utilisation du chitosane et de ses dérivés comme additif alimentaire a des effets positifs antimicrobiens, antioxydants, immunorégulateurs et limite le cholestérol sanguin. Néanmoins, il est important de réaliser qu'il présente diverses structures aux propriétés biologiques différentes sachant qu'aucun type de chitosane ne présente la gamme complète de ses propriétés variées. Une multitude d'études ont démontré les effets bénéfiques du chitosane tels que l'amélioration de la digestibilité des nutriments et l'amélioration des performances de croissance (Guan et al., 2019).

I.6.6 Effet et utilisations en médecine :

Le développement de systèmes de transport de gènes efficaces et sûrs capables de transférer l'ADN dans les cellules est un objectif majeur de la thérapie génique. Plusieurs études de la littérature montrent que le chitosane présente un matériau approprié pour une thérapie génique non virale efficace. En plus de ses nombreuses caractéristiques, le chitosane bénéficie d'un effet d'inhibition de la croissance des cellules tumorales. L'approche devrait permettre de délivrer des médicaments aux tissus tumoraux de manière sélective et avec une grande efficacité. Bien que les études *in vivo* des nanoparticules de chitosane targuées soient actuellement limitées, les résultats des études *in vitro* ont démontré leur promesse d'applications dans le traitement et le diagnostic du cancer (Pokhrel et al., 2016). Les propriétés biologiques et les utilisations biomédicales leurs étant correspondantes du chitosane sont présentées dans la figure 4.

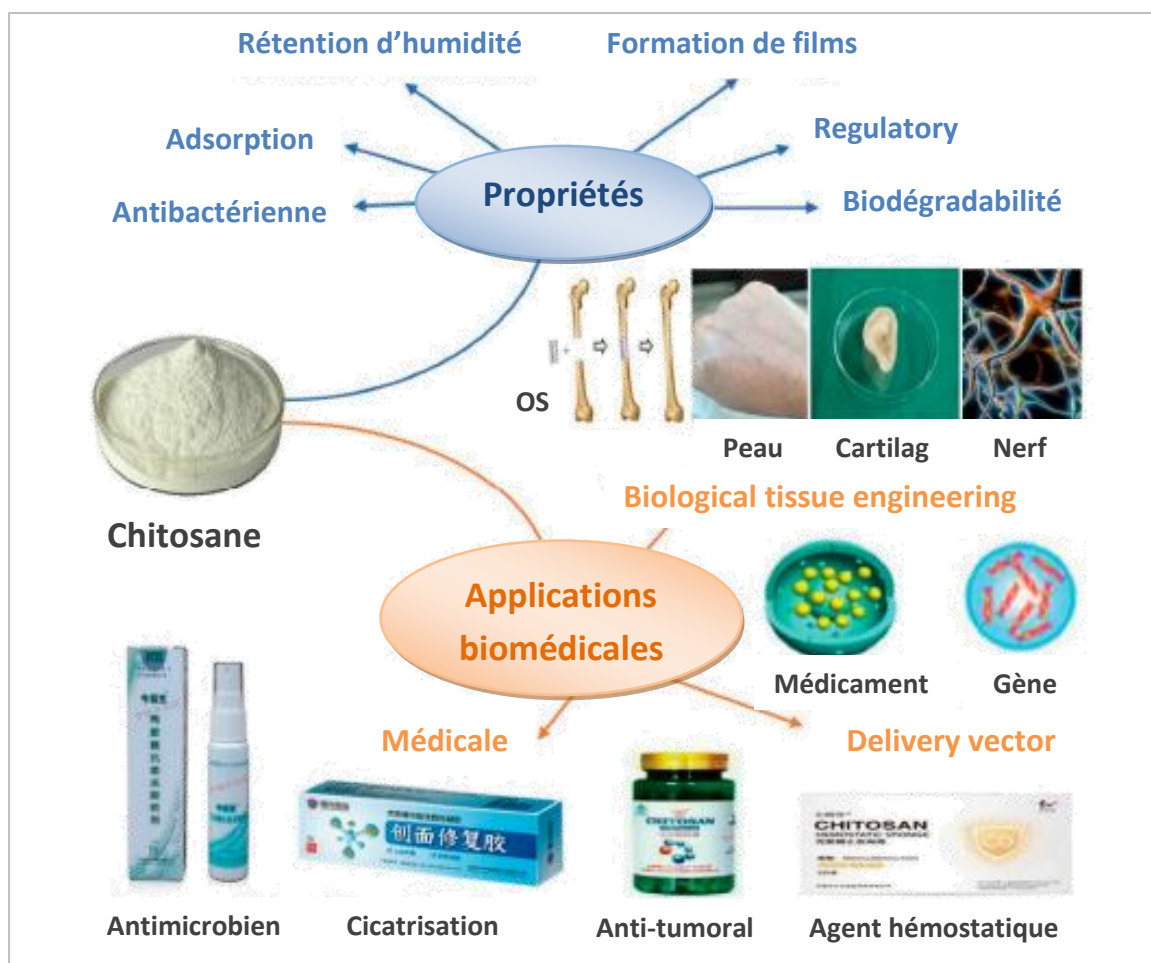


Figure 4 : Correspondance de certaines propriétés biologiques du chitosane avec ses applications en biomédical (Pal et al., 2021).

I.6.7 Effet et utilisation en Cosmétique :

Le chitosane est soluble dans les solutions aqueuses acides et peut facilement produire différentes conformations telles que des micros, nano et milli particules, des films, des échafaudages et des fibres, entre autres. La chitine ainsi que le chitosane et ses dérivés présentent de nombreuses propriétés différentes et pertinentes en tant qu'ingrédients actifs dans les soins dentaires, de la peau, des cheveux et des ongles. De plus, ils ont des propriétés optimales pour véhiculer des ingrédients actifs pour l'industrie cosmétique et cosméceutique. Ces précieuses propriétés sont fortement liées aux caractéristiques physico-chimiques du polymère (**Guan et al., 2019**).

Afin d'augmenter l'efficacité des dentifrices avec des cations fluorure et métal polyvalent, le bio-polymère chitosane est utilisé comme additif pour ses propriétés prometteuses en raison de sa capacité à interagir électro-statiquement avec la structure dentaire et d'autres tissus dans l'environnement oral. Le bio-polymère est capable de former des couches protectrices sur les surfaces des dents et possède certaines propriétés lubrifiantes. De plus, son potentiel d'inhibition des défis érosifs a préalablement été étudié *in vitro* (**Pini et al., 2020**).

I.7 Autre application :

I.7.1 Préparation des implants :

Le contact à court terme de l'implant avec le sang peut conduire à l'adsorption de protéines plasmatiques, de calcium, d'adhérences plaquettaires et bactériennes sur la surface de l'implant. Les plaquettes adhérentes peuvent alors être activées, ce qui entraîne une cascade de coagulation et un processus de coagulation. La cascade de coagulation et ensuite la thrombose. A long terme, la calcification des implants (valves cardiaques, implants mammaires et stents) peut être provoquée par la croissance de dépôts de phosphates de calcium ou d'autres sels de calcium. En outre, les implants souffrent d'une forte accumulation de plaques qui est généralement liée aux deux plus importants agents pathogènes, à savoir *Porphyromonas gingivalis* et *Streptococcus mutans* (**Shariatnia, 2019**).

I.7.2 Additif alimentaire :

La capacité de charge des nanoparticules de chitosane alginate peut également être exploitée pour concevoir de nouveaux additifs alimentaires. Les scientifiques ont préparé plusieurs émulsions multicouches de particules de gélatine et d'enveloppes de chitosane alginate par dépôt électrostatique couche par couche. Ils ont conclu que la stabilité de

l'émulsion au crémage pendant le stockage et la stabilité des gouttelettes d'émulsion contre la phase gastrique dépendent du nombre de couches interfaciales. Ces systèmes d'administration à base d'alginate-chitosane sont considérés comme prometteurs pour les produits alimentaires tels que les boissons et le fromage car ils permettent de surmonter le goût de poisson et la faible solubilité dans l'eau des huiles de poisson. solubilité dans l'eau des huiles de poisson (Niculescu, 2022).

I.7.3 Application dans la conservation des aliments :

Comme le chitosane présente une activité antimicrobienne, ses films sont très prometteurs pour leur application dans la conservation des aliments. L'activité antimicrobienne limite ou empêche la croissance microbienne en prolongeant la période d'intervalle et en réduisant le taux de croissance ou en diminuant le nombre de micro-organismes (Pokhrel et al., 2016).

I.7.4 Utilisation potentielle contre le COVID-19 !

Les propriétés antimicrobiennes et antivirales avérées du chitosane lui confèrent également un rôle dans le développement de vaccins antiviraux grâce à ses propriétés d'adjuvantes. En outre, l'utilisation du chitosane dans le développement de vaccins à nanoparticules pour traiter les maladies à arbovirus a été suggérée. Au cours des 12 à 18 derniers mois, ces suggestions ont conduit à l'étude du chitosane en tant que traitement potentiel du SRAS-CoV-2 (l'agent étiologique du COVID 19) " intérêt de longue date pour le chitosane en tant qu'agent pharmaceutique ". Les résultats des chercheurs indiquent que le SRAS-CoV-2 est susceptible d'évoluer vers une forme endémique dans un avenir proche, cela signifie que les efforts doivent être poursuivis pour traiter cette maladie sur une base saisonnière et d'une manière ressemblante à celle entreprise avec la grippe saisonnière, prenant en compte l'utilisation de différents adjuvants vaccinaux et protocoles antiviraux et en jugeant que le chitosane et ses dérivés interprètent un rôle vital à jouer dans cette campagne (Jaber et al., 2022).

Chapitre II
La propolis

II La propolis :

II.1 Historique de la propolis :

Depuis des milliers d'années, la propolis est largement utilisée en médecine traditionnelle : les chercheurs ont démontré son grand potentiel pharmacologique dans de nombreux domaines, elle peut être utilisée comme antimicrobien, anti-inflammatoire, antiviral, antioxydant, antibactérien, antiseptique, antibiotique et anti-cancérigène ; elle est également utilisée dans les industries cosmétiques et alimentaires (**Di Capua et al., 2018**).

Les anciens égyptiens l'utilisaient principalement pour embaumer leurs cadavres car il empêchait la prolifération et la décomposition bactériennes et fongiques. La propolis a été utilisée par les humains dans différents domaines, y compris principalement la médecine populaire pour le traitement des maladies gastro-intestinales (c'est-à-dire les ulcères de l'estomac et les infections buccales), des plaies et des brûlures. Hippocrate utilisait la propolis pour soigner les plaies et les ulcères externes et internes. De plus, au 17^{ème} siècle, les pharmacopées britanniques répertorient la propolis comme médicament officiel. Pendant la Seconde Guerre mondiale, la propolis était utilisée comme agent antibactérien et anti-inflammatoire. Ce matériau naturel a également été utilisé comme antibactérien, fongicide, antioxydant, immunomodulateur et anti-inflammatoire, entre autres. Par conséquent, la propolis est actuellement incorporée dans une large gamme de produits de soins de santé complémentaires, notamment des crèmes, des gels, des lotions pour la peau, des shampooings, des chewing-gums, des teintures, des sprays pour la gorge, des sirops contre la toux, des pastilles, des savons, des dentifrices et des préparations pour bains de bouche (**Forma & Bryś, 2021**).

II.2 Définition de la propolis :

Sous-produit de la production apicole, la propolis est raclée à partir des cadres de la ruche et présente un mélange complexe de substances résineuses, gommeuses et balsamiques recueillies par les abeilles domestiques à partir d'exsudats et de germes végétaux, auxquels les abeilles ajoutent de la salive, de la cire et du pollen pour élaborer le produit final. Les constituants actifs de la propolis diffèrent selon la source géographique ainsi son activité biologique dépend des composés des fractions polyphénoliques, principalement des flavonoïdes, suivis des acides aromatiques, des esters d'acides phénoliques et des lignanes ou des composés terpénoïdes (**Moreno et al., 2020**).

" Pro " → du grec ancien, signifie à l'entrée et " polis " → signifie ville ou communauté, indiquant l'utilité de la propolis dans la protection et la défense de la ruche. Les abeilles utilisent ce matériau naturel pour :

- la réparation des dommages dans la ruche couvrant les trous et scellant les fissures du nid ;
- l'affinage des parois internes et pour maintenir une humidité et une température constantes dans la ruche ;
- la défense de la colonie contre : micro-organismes pathogènes, parasites et prédateurs (Forma & Bryś, 2021).

II.3 Origine botanique de la propolis :

En Europe centrale y compris en Pologne, les abeilles recueillent la sécrétion des bourgeons du peuplier (*Populus* spp.) et de l'aulne (*Alnus* spp.). Différentes espèces de peupliers sont également une source de résine dans d'autres pays européens dont la Bulgarie, Hongrie, Albanie et Angleterre, en plus des zones tempérées (Etats-Unis, Mongolie, Asie occidentale et Afrique du Nord).

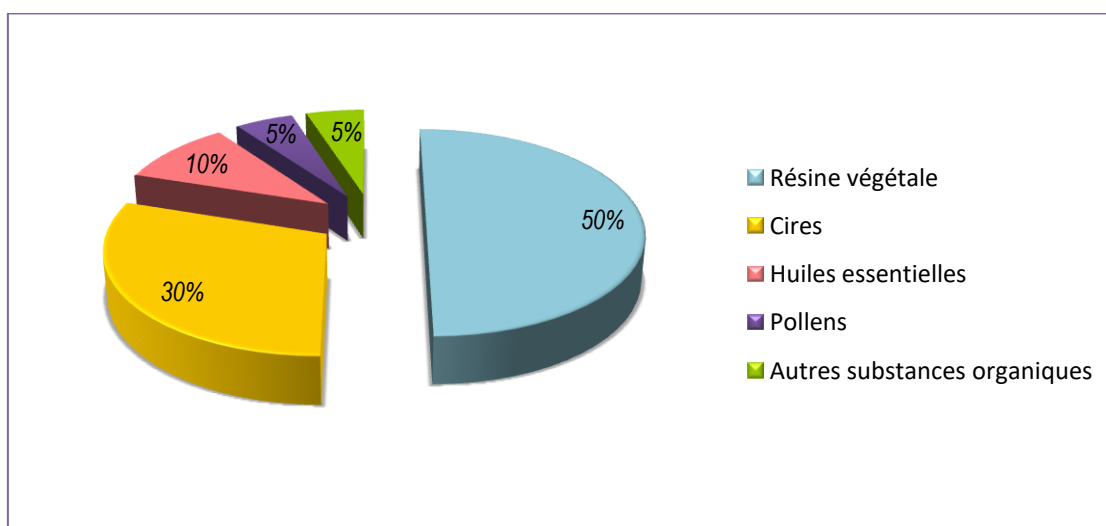
Le bouleau (*Betula* spp.) est une source de propolis en Europe du Nord telle la partie nord européenne de la Russie. Les abeilles produisent également de la propolis à partir de bourgeons de saule (*Salix* spp.), de chêne (*Quercus* spp.), de frêne (*Fraxinus* spp.), de châtaignier (*Aesculus* spp.) et d'écorce de conifères, comme l'épinette (*Picea* spp.), le sapin (*Abies* spp.) ou le pin (*Pinus* spp.). Dans les pays tropicaux, les abeilles utilisent les sécrétions de plantes telles que Xanthorrhoea (Australie), Acacia (Afrique du Nord), Plumeria (Hawaï), Clusia (Amérique centrale) et Baccharis, Araucaria, Eucalyptus (Brésil) (Przybyłek & Karpiński, 2019). En Algérie, les sécrétions recueillies sont obtenues à partir du peuplier *Ferula communis* L. subsp. *communis* (Férule commune).

II.4 Composition chimique de la propolis :

La composition chimique de la propolis est étroitement liée aux résines et aux baumes des sources végétales utilisées pour la produire. Parallèlement aux progrès de la recherche, plus de 300 composants chimiques de la propolis ont été identifiés. Les principaux groupes de composés chimiques présents dans la propolis, à l'exception des résines, sont les cires, les polyphénols (acides phénoliques, flavonoïdes) et les terpénoïdes ainsi que les vitamines et minéraux (figure 5 et tableau 1).

Tableau 1 : Constituants de la propolis (Alvarenga et al., 2021).

Flavonoïdes	Pinocembrine, acétine, chrysin, rutine, lutéoline, kaempférol, apigénine, mycétine, ctéchine, naringénine, galangine, acides caféique et 3,4-diméthylcaféique, acide isophérulique et quercétine.
Vitamines	B ₁ , B ₂ , B ₆ , C et E
Minéraux	Magnésium, calcium, potassium, sodium, cuivre, zinc, manganèse et fer

**Figure 5 : Composants de la propolis (Przybyłek & Karpiński, 2019).**

En outre, elle comprend également d'autres composés phénoliques (par exemple l'artépilline C) et des terpènes (terpinéol, camphre, géraniol, nérol, farnésol) responsables de son parfum caractéristique. Cette diversité de la composition chimique confère à la propolis un avantage supplémentaire en tant qu'agent antibactérien. La combinaison de nombreux principes actifs et leur présence dans des proportions variées empêche la résistance bactérienne de se produire (Przybyłek & Karpiński, 2019).

II.5 Propriétés physico-chimiques de la propolis :

Les caractéristiques physico-chimiques et sensorielles de la propolis se définissent telles le montre le tableau 2 ci-dessous :

Tableau 2 : Description physico-chimique et sensorielle de la propolis (Alvarenga et al., 2021) ; (Forma & Brys, 2021) ; (Potier & La, 2014) .

Densité	1,186
Consistance	Cassante et dure à des températures inférieures à 25 °C, mais douce, souple, gommeuse et très collante entre 25 et 45 °C.
Solubilité	La propolis est partiellement soluble dans l'eau (avec ébullition à reflux), l'alcool, l'acétone, l'ammoniaque, le benzène, le chloroforme, l'éther et le trichloréthylène ; et devient totalement soluble dans un unique mélange adéquat composé de ces différents solvants.
Point de fusion	En règle générale, il est compris entre 70 et 100 °C et est estimé être égal à un intervalle allant de 65 à 66 °C lorsqu'elle est pure.
Caractéristiques sensorielles	<ul style="list-style-type: none"> → Parfums aromatiques herbacés spécifiques et agréable évoquant cannelle et vanille → Saveur âcre et amère → Variation de couleurs allant du jaune au vert et du rouge au brun foncé, selon l'âge, temps de stockage et source d'obtention.

II.6 Activités biologiques de la propolis :

La propolis est connue par ses propriétés biologiques précieuses telles qu'antibactérienne, anti-oxydante, anti-inflammatoire, anti-neurodégénérative, anti-tumorale, antifongique, anti-protazoaire, antivirale, protectrice de l'hépatite, anesthésique locale et piégeant les radicaux libres (Oroian et al., 2020).

Ces divers types d'activités biologiques de la propolis d'abeilles sont représentés dans la figure 6 ci-dessous :

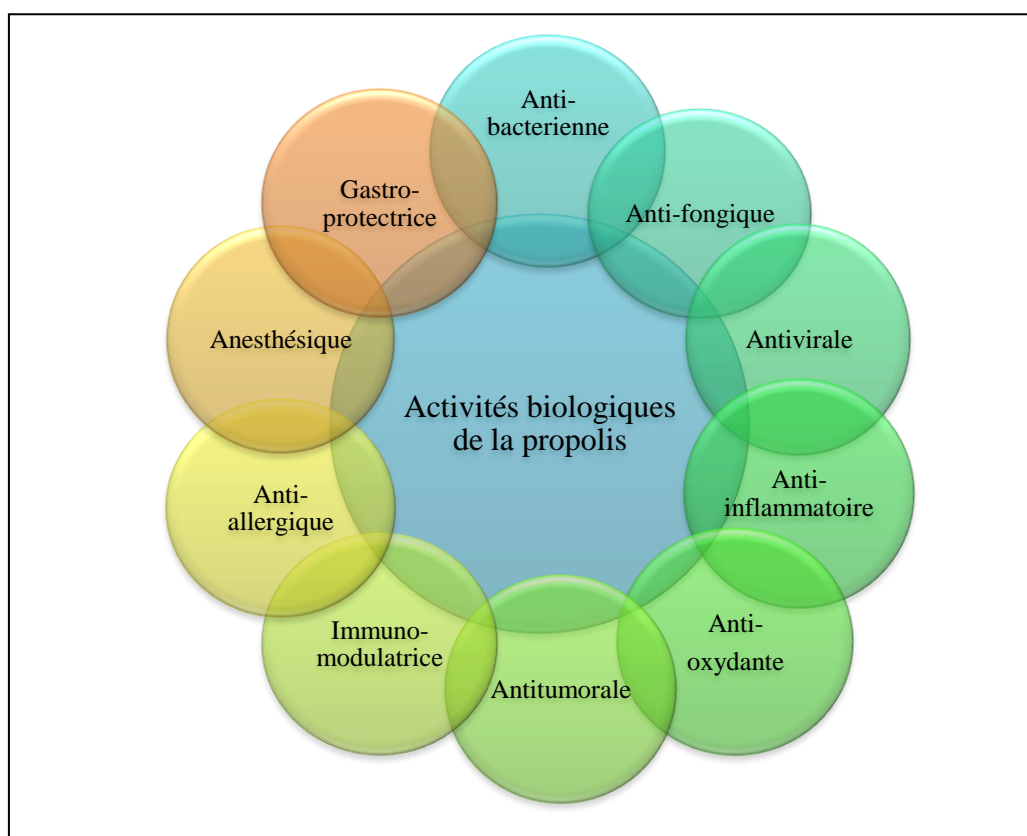


Figure 6 : Différentes propriétés biologiques de la propolis (**originale**).

II.6.1 Propriété antibactérienne :

La propolis est plus efficace contre les bactéries Gram-positive dont *Staphylococcus aureus* que les bactéries Gram-négative dont *Escherichia coli*. Sa meilleure activité a été observée avec la propolis du Moyen-Orient, qui s'est révélée extrêmement efficace la comparant avec celles prélevée à partir d'autres emplacements géographiques (**Almuhayawi, 2020**).

Les propriétés antimicrobiennes et antiparasitaires de la propolis doivent être considérées à deux niveaux dont l'impact sur l'agent pathogène lui-même et l'impact sur l'hôte (**Zulhendri, Chandrasekaran, et al., 2021**).

Les flavonoïdes et les esters d'acides phénoliques présents dans la propolis sont habituellement les composants actifs liés à l'effet antibactérien. Des échantillons de distincts types de propolis provenant de diverses régions géographiques ont été étudiés (rouge, vert et brun), montrant des activités antibactériennes distinctes contre différents microorganismes (tableau 3) (**Rivera-Yañez et al., 2021**).

Tableau 3 : Effet antibactérien de divers propolis (Rivera-Yañez et al., 2021).

Propolis :	Espèces bactérienne :	Composants identifiés :	Activité :
Brésil (propolis rouge, verte et brune de diverses régions)	<i>S. aureus</i>	Acide férulique, acide gallique, acide caféique, acide coumarique, acide p-coumarique, catéchine, drupanine, kaempféride, artepilline C, lutéoline et pinocembrine	L'activité des extraits rouges est plus élevée que celle des extraits verts et bruns (CMI ^{*1} : 25 - 200 µg/ml)
Pologne	<i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , Methicillin-Resistant <i>Staphylococcus aureus</i> et Methicillin-Susceptible <i>Staphylococcus aureus</i>	Flavonols, flavones, flavanones, pinocembrine, chryisine, pinobanksine, apigénine, kaempférol, acide p-coumarique, acide férulique et acide caféique	Effets antibactériens distincts sur <i>S. aureus</i> et <i>S. epidermidis</i> ainsi qu'une activité antistaphylococcique élevée éradiquant efficacement le biofilm staphylococcique (CBM ^{*2} : 0,78 - 3,13 mg/ml)
Propolis sud-africaine	<i>S. aureus</i>	Pinocembrine, galangine et chryisine	Inhibition élevée par combinaison de ces trois flavonoïdes au lieu d'avoir 1 seul

*1 : Concentration Minimale Inhibitrice ; *2 : Concentration Bactéricide Minimale.

II.6.2 Propriété antifongique :

La propolis contient une activité antifongique seule mais fonctionne aussi en synergie lors d'usage simultané avec d'autres agents antifongiques, contre *Trichophyton*, *Mycrosporium*, *Candida albicans*, les champignons planctoniques et dans les biofilms. Son utilisation tels agent antifongique topique ou substance complémentaire dans les médicaments

antifongiques a été envisagée car la cytotoxicité de la propolis peut être plusieurs fois inférieure à celle des substances antifongiques synthétiques (**Papp et al., 2021**).

Une activité antifongique significative d'échantillons de propolis a aussi été mise en avant contre des levures isolées à partir d'hémocultures chez des patients en soins intensifs. L'effet toxique des antifongiques est l'un des principaux revers du processus de traitement actuel. Il a été démontré que la sensibilité de la propolis contre la levure est comparable à celle du fluconazole et de l'itraconazole (**Abdelrazeg et al., 2020**).

II.6.3 Propriété antivirale :

Une grande variété de médicaments a été utilisée pour traiter les maladies virales qui ne sont pas toujours sûres et efficaces aux effets secondaires indésirables, indiquant la nécessité de nouveaux médicaments antiviraux extraits de sources naturelles (**Ripari et al., 2021**).

Il a été démontré que la propolis possède des propriétés antivirales contre un large éventail de virus dont diverses souches d'herpesvirus, d'adénovirus, rotavirus, coronavirus par ses flavonoïdes, plus important encore le CoV-2 du SARS ainsi que le virus de la grippe, le rhinovirus, le parvovirus et le VIH (**Zulhendri, Chandrasekaran, et al., 2021**).

D'après (**Berretta et al., 2020**) Cela a été déterminé après divers tests sur » de multiples organismes pathogènes viraux où ses composants bioactifs peuvent sans antagoniser l'activité des médicaments antiviraux tels que la zidovudine et l'indinavir entrer dans la production de produits pharmaceutiques actifs et spécifiques (**Zulhendri, Chandrasekaran, et al., 2021**).

II.6.4 Propriété anti-inflammatoire :

Chauhan et al., 2020 ont suggéré que les flavonoïdes considérés comme des groupes phénoliques présentatifs parmi les produits d'origine naturelle présents dans la propolis sont associés à l'activité anti-inflammatoire observée dans la propolis. Parmi ces flavonoïdes, la galangine agissant par inhibition de l'enzyme cyclooxygénase (COX) responsable de la formation des prostaglandines.

De plus, une étude *in vivo* sur des groupes de souris diabétiques et non diabétiques a permis de constater que la propolis augmente significativement la fermeture des blessures des diabétiques ainsi que la formation de collagène (**Eddouks et al., 2021**).

II.6.5 Propriété anti-oxydante :

De nombreuses études montrent que la propolis et ses dérivés apparentés semblent éliminer le stress oxydatif, en particulier dans les rayonnements qui causent des lésions au cerveau, en augmentant les activités de l'enzymes antioxydante et en réduisant la formation de peroxydation lipidique et aussi en diminuant la génération de radicaux libres (**Abduljalal et al., 2021**).

Ibrahim & Alqurashi, 2022 ont conclu d'après leur évaluation d'extraits de propolis éthanolique et aqueux pour leur activité anti-oxydante en utilisant le piégeage des radicaux 1,1 diphényl-2-pictylhydrazyle (DPPH), que celle extraite à l'éthanol possède une plus grande activité anti-oxydante à un pourcentage égal à $94,45 \% \pm 0,85$ que l'extrait aqueux ($90,01 \% \pm 0,18$) ce qui suggère son potentiel comme agent de conservation naturel par le biais des composés phénoliques crédités pour cette forte capacité anti-oxydante de la propolis.

II.6.6 Propriété anti-tumorale :

En ce qui concerne le traitement oncologique, la propolis et ses composés actifs ont une activité anticancéreuse au pouvoir d'affecter les processus clés du développement du cancer, c'est-à-dire la prolifération cellulaire, l'évitement de l'apoptose par le biais de son potentiel de traitement du cancer du sein chez l'être humain en raison de son activité anti-tumorale, l'angiogénèse, l'invasion et les métastases. De plus, ils affectent le microenvironnement tumoral et chimiosensibilisent les cellules cancéreuses caractérisées par une multi-résistance.

La propolis peut également être utilisée par les patients subissant une chimiothérapie et une radiothérapie pour réduire les effets secondaires de ces thérapies (**Forma & Brys, 2021 ; Rebolledo Ranz, 2021**).

II.6.7 Propriété immunomodulatrice :

L'un des effets biologiques de la propolis est son effet immunomodulateur soit en améliorant ou en supprimant le système immunitaire. Cet effet contradictoire est probablement dû à sa variété chimique complexe, à sa présence dans différentes régions géographiques et aux différentes formes d'extraction. Ces effets sont en particulier liés à ses composés phénoliques, flavonoïdes compris et semblent être associés aussi à une combinaison de ses différents composants.

L'activité immuno-modulatrice de la propolis a également été étudiée *in vivo* à l'aide du modèle d'asthme induit par l'ovalbumine (OVA) démontrant que les extraits de la propolis

peuvent supprimer les taux sériques d'anticorps IgE et IgG spécifiques de l'OVA et atténuer l'inflammation des voies respiratoires, probablement par la capacité de la propolis à moduler la production de cytokines (**Waisundara et Shiomi, 2017**).

II.6.8 Propriété antiallergique :

La propolis a un potentiel prometteur pour être développée davantage pour une utilisation thérapeutique ou prophylactique dans les maladies allergiques telles que l'asthme, la rhinite allergique et la dermatite atopique de par l'épaullement de ses avantages thérapeutiques par des études précliniques et cliniques tout en établissant le lien entre activité antiallergique et composition chimiques de la propolis en particulier (chryisine, kaempférol, galangine, pinocembrine, CAPE et artepiline C) afin d'assurer de découvrir de nouveaux composés antiallergiques.

De plus, il est suggéré d'évaluer l'efficacité de la propolis en tant que traitement d'appoint ou supplément en cas de rhinite allergique et dermatite atopique en milieu clinique car une telle approche est sûre et efficace pour les patients asthmatiques (**Liew et al., 2022**).

II.6.9 Propriété anesthésique :

En plus de fournir des actions antibiotiques et par application de solution aqueuse de propolis à 5 % des actions antimycotiques conduisant à une amélioration du bien-être vaginal, la propolis procure un soulagement symptomatique grâce à ses propriétés anesthésiques (**Rebolledo Ranz, 2021**).

II.6.10 Effet digestif :

L'effet digestif de la propolis d'abeille est mis en avant en inhibant les spasmes des voies digestives (**Ghedira et al., 2009**). Même si la propolis est utilisée en médecine populaire pour traiter les troubles gastriques depuis des siècles, (**Boeing et al., 2021**) ont développé en avant première une étude pour élucider les effets gastroprotecteurs de la propolis rouge du nord-est du Brésil, ce qui leur a conduit à confirmer cet effet médié par les prostaglandines par le traitement par l'extrait hydro-alcoolique de la propolis rouge, essentiel pour protéger les muqueuses des dommages causés par l'environnement acide de l'estomac.

Il est intéressant de noter aussi qu'un autre type de propolis (la verte brésilienne) protège la muqueuse gastrique apparemment par inhibition des sécrétions d'acide gastrique.

II.7 Applications nutraceutiques et fonctionnelles de la propolis :

La propolis d'abeilles a quelques applications nutraceutiques dont :

- Son utilisation lors de cancer ;
- Pour l'inhibition des virus ;
- Dans la dentisterie, dermatologie, gynécologie, ophtalmologie, maladies pulmonaires et celles du système digestif ;
- En tant que conservateur dans la technologie alimentaire pour augmenter la durée de conservation de la viande en combinaison de sorbate de potassium ;
- Ainsi que la possibilité de son utilisation comme antiseptique et antifongique en raison de la présence d'acide cafféique, galangine et acide férannique (**Jafari et al., 2021**).

En fait, la propolis a un large spectre de propriétés pharmacologiques et est un complément alimentaire qui est couramment consommé par les personnes en bonne santé et malades à titre préventif et pour le traitement (**Berretta et al., 2020**).

II.7.1 Applications en médecine humaine :

Les propriétés pharmacologiques phénoménales et diverses de la propolis déterminent que la protection de la santé humaine évoque le domaine principal de son application (**Berretta et al., 2020**). Elle est incluse dans la production de médicaments contre les infections bactériennes et fongiques (**Kurek-Górecka et al., 2020**), ainsi qu'au traitement des maladies métaboliques garantissant des effets antidiabétique, antihyperlipidémique et anti-obésité (**Balica et al., 2021**).

Considérant les composants de la propolis comme la résine, le pollen, les vitamines, les flavonoïdes et les phénols, elle peut être utilisée à diverses fins en endodontie au rôle prometteur dans la médecine future et dentisterie (**Ahangari et al., 2018**).

En raison de ses propriétés antimicrobiennes, anti-oxydantes, anti-inflammatoire et antiprolifératives, la propolis a un immense potentiel en dentisterie, gestion de la santé buccodentaire, traitements des infections de la gorge et en médecine. La figure 7 et le tableau 4 résument les différentes utilisations thérapeutiques de la propolis en dentisterie (**Zulhendri, Felitti, et al., 2021**) :

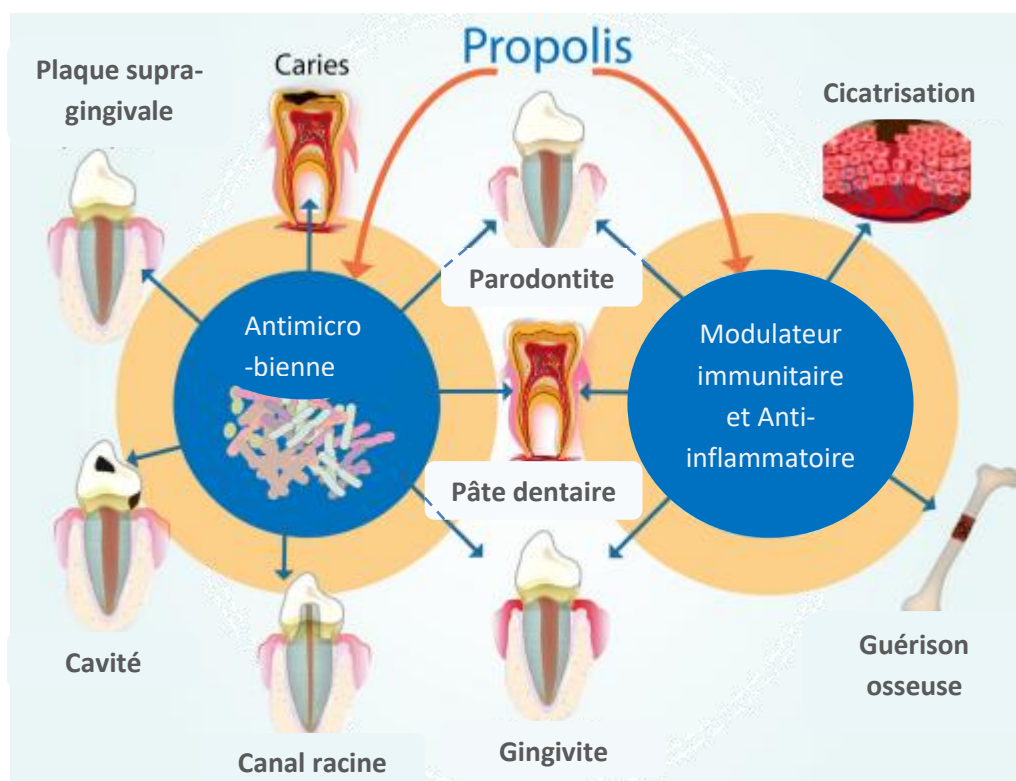


Figure 7 : Utilisations potentielles de la propolis en dentisterie (Zulhendri et al., 2021).

Tableau 4 : Quelques unes des utilisations thérapeutiques de la propolis en dentisterie.

Utilisations thérapeutiques :	Résultats étudiés :	Références :
Dentifrices à base de propolis	Inhibition de la formation de plaque dentaire à 34,3 % par an et réduction de développement de caries dentaires.	(Kurek-Górecka et al., 2020).
Solution de rinçage buccale à 0,5 %	Complète le soin de la cavité buccale et réduit la plaque dentaire de 18,1 % après 21 jours d'utilisation.	(Kurek-Górecka et al., 2020).
Traitement de gingivite et de parodontite	Réduction du nombre de bactéries pathogènes, de la plaque dentaire, des indices gingivaux et orthodontiques.	(Zulhendri et al., 2021).

Médicament intracanalalaire et Canalaire	Effet bactéricide contre <i>Prevotella nigrescens</i> , <i>Fusobacterium nucleatum</i> , <i>Actinomyces israelii</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>S. aureus</i> et <i>Candida albicans</i> .	(Zulhendri et al., 2021).
Médicament pour pulpe dentaire	Augmentation de la réparation et de la qualité de la dentine, de la production de cellules souches, et diminution des réponses inflammatoires.	(Zulhendri et al., 2021).
Médicaments pour la cicatrisation des plaies et la guérison des os	- Augmentation de la réparation épithéliale et de la cicatrisation des plaies ; - Réduction de l'ostéoclastogenèse et de la perte osseuse associées à la parodontite.	(Zulhendri et al., 2021).

II.7.2 Applications en médecine vétérinaire :

Les propriétés pharmacologiques de la propolis sont considérées comme de la plus haute importance pour une application en médecine vétérinaire portant à apporter des effets bénéfiques sur la mammite, la cicatrisation, la diarrhée, les infections gastro-intestinales et génitales, les otites et les dermatites.

Cette colle d'abeilles est tant utile pour amender les performances de croissance et la productivité des animaux de laboratoire et d'élevage dont les volailles (poulets, poules pondeuses et cailles), les agneaux, les bovins, les ovins, les porcins et les poissons que considérée comme une alternative prometteuse aux antibiotiques dans l'alimentation animale de par son avantage de non induction de résistance chez les micro-organismes (Popova et al., 2021).

II.7.3 Applications en dermatologie et soins de la peau :

En raison d'un grand nombre d'activités biologiques, la propolis telle produit apicole peut être considérée comme produit important dans les cosmétiques appliqués sur la peau et la production de pommades en pharmacie (Kurek-Górecka et al., 2020), ce qui a bien été mis en avant dans le tableau 5.

Tableau 5 : Différentes utilisations de la propolis en cosmétique et en dermatologie (Kurek-Górecka et al., 2020).

Applications :	Effets/raisons de cette application :
Fabrication de produits cosmétiques pour peaux acnéiques	Effets régénératifs, de réparation et de protection contre les facteurs externes à des concentrations entre 5 - 20 %
Production de préparations anti-escarres	Raffermer le tissu dermique et le protéger contre les microbes pathogènes
Adjonction aux antisolaires (crèmes, lotions, sticks, rouges à lèvres et rouges à lèvres protecteurs)	- Protection contre les Ultraviolets par absorption de la lumière UV en raison de la présence d'acides caféique, coumarique et férulique. - Elle est dotée de propriétés de filtre naturel, d'effets antioxydants, anti-inflammatoires et régénératifs et d'effets photo-protecteurs contre les UVB.
Fabrication de soins de peau	Règle les problèmes fongiques de la peau dus à la présence de flavonoïdes (pinocembrine et pinobanksine), d'acide phénolique (acide caféique) et de terpènes.
Fabrication de shampooings anti-pellicules	Traitement naturel et prévention de récurrence des pellicules par le biais d'actions antifongiques et anti-séborrhéiques.
Fabrication de crème anti-âge	Lisse les rides grâce au rôle antioxydants des composés phénoliques et flavonoïdes par neutralisation de l'effet néfaste des radicaux libres sur la peau.
Fabrication de crème éclaircissante et hydratante	Réduit les signes de fatigue et hydrate la peau.

Fabrication de pommades pour le traitement d'herpès simplex	Avec la galangine, le kaempférol et la quercétine au pouvoir antiviral.
Remède aux blessures diabétiques	Stimulation de l'angiogenèse par le biais de la génistéine.

NB : Une allergie à la propolis est rare et la réponse allergique est plus fréquemment rapportée après une application topique qu'une réponse orale (Kurek-Górecka et al., 2020).

II.7.4 Autres applications :

- Application de la propolis dans l'industrie alimentaire visant principalement à supprimer les effets des agents microbiens et oxydants et à remplacer les agents de conservation artificiels non appréciés par les consommateurs. Elle allie de ce fait favorablement les propriétés anti-oxydantes et antimicrobiennes remarquablement ce qui en fait un excellent candidat pour la conservation de denrées alimentaire telles les jus de fruits, fruits, légumes, œufs, viandes et poissons.

NB : son utilisation commerciale à grande échelle tel conservateur alimentaire n'est pas encore mise en évidence du fait qu'elle sollicite une normalisation fiable.

- Application en tant qu'ingrédient de matériaux d'emballage actifs, unie à la conservation des aliments. Parmi ces matériaux-ci on compte les films d'emballage actifs et revêtements comestibles. De tels matériaux peuvent avoir un impact sur les propriétés physiques, biochimiques et sensorielles des aliments pendant le stockage, tels : fruits, légumes, viande et poisson. Leur fonctionnalité est liée aux : type, méthodes de récolte et d'extraction de la propolis et à la teneur et composition des substances bioactives de l'extrait même.
- Application lors de la production de matériaux textiles antimicrobiens à différentes fins (pansement, l'ingénierie tissulaire et utilisation médicale et hygiénique), ceci par incorporation d'une petite quantité dans des microfibrilles polymères électro-filées.
- Application dans le cadre d'une stratégie verte comme finition écologique pour le tissu de coton.

- D'autres applications de propolis ont été rapportées : comme inhibiteur de corrosion, comme pesticide en horticulture, pour des applications optoélectroniques, dans des filtres à air, etc. Elle pourrait même contribuer aux actions contre le réchauffement climatique, en raison de sa capacité à réduire la méthanogénèse chez les ruminants.

Il est évident que la propolis a le potentiel d'être utilisée pour le développement de divers produits innovants (médicaments, produits cosmétiques mais aussi dans les domaines de l'élevage et des industries alimentaires, etc.) (Popova et al., 2021).

II.8 COVID-19 le sujet d'actualité !

La pandémie du COVID-19 est très préoccupante de par ses répercussions sur la santé humaine et sur l'économie. Elle est beaucoup plus mortel qu'une grippe et de divergentes maladies à impact mondial récent, forçant les pays à prendre des mesures inhabituelles (limitation de voyages, fermeture d'établissements scolaires et de lieux sources de rassemblements) et à adopter de multiples stratégies de santé publique, mais avec une efficacité restreinte car le virus continue de se propager !

Parmi les alternatives de médecine naturelle, la propolis a été largement étudiée et est déjà largement consommée dans de nombreux pays (Berretta et al., 2020). Les patients atteints du COVID-19 recevant un extrait de propolis entier seul et/ou combiné avec des extraits d'herbes médicinales, bénéficient d'une clairance virale plus précoce, d'une guérison plus rapide ainsi qu'une diminution de la durée d'hospitalisation car les liposomes de ce produit naturel expriment un potentiel précieux anti-CoV-2 du SARS attribué à l'activité de la rutine et le CAPE (flavonoïdes de la propolis) analogue à celui du remdesivir. Où L'élimination des allergènes de la propolis d'abeille peut être nécessaire pour éviter tout effet indésirable possible (Ali & Kunugi, 2021).

Matériels et méthodes

Notre travail consiste à mettre en place un procédé d'extraction de produits chitineux à partir de déchets issus de carapaces de crevettes, le but est de produire un bio-polymère le chitosane : deuxième polysaccharide le plus abondant après la cellulose. L'autre objectif important dans notre étude est de valoriser la propolis : un des majeurs sous produits de la ruche, visant à soutenir les projets écologiques dans notre pays et à contribuer dans la préservation de la santé humaine fortement menacée par la résistance aux antibiotiques, dans le but de mettre en avant les propriétés biologiques de ces deux molécules bioactives.

III.1 Matériels :

III.1.1 Origine et nature de la chitine :

Les déchets de crevettes originels de multiples pêcheries de la wilaya de Tlemcen que nous avons récupérés sont à l'origine des carapaces nous ayant servi de matière première pour l'extraction de la chitine et du chitosane.

III.1.2 Origine et nature de la propolis :

Un échantillon de la propolis appartenant à l'espèce *Apis mellifera* a été collecté de chez un apiculteur de AIN YOUCEF dans la wilaya de Tlemcen situé à l'ouest d'Algérie, le mois de septembre.

III.1.3 Souches pathogènes utilisées :

Staphylococcus aureus ATCC 6538 et *Escherichia coli* ATCC 8739 ont été utilisées dans la présente étude après avoir étudié leur cinétique. Le tableau 6 met en avant : le milieu de culture, la température de croissance et le temps d'incubation permettant à atteindre la phase exponentielle de chacune des souches.

Tableau 6 : Milieu de culture, température de croissance et temps d'incubation des souches utilisées.

Souches	Référence	Milieu de culture	Température de croissance
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	Laboratoire de recherche LAMAABE, Tlemcen	BHI (réf. 804251, Laboratoire Conda S.A, Madrid, Spain)	37 °C
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Laboratoire de recherche LAMAABE, Tlemcen	BHI (réf. 804251, Laboratoire Conda S.A, Madrid, Spain)	37 °C

III.1.4 Milieux de culture :

Les germes pathogènes : *Escherichia coli* ATCC 8739 et *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 ont été réactivés puis cultivés par emploi de 9 ml du bouillon de cœur-cerveille BHI (Brain Heart Infusion : réf. 804251, Laboratoire Conda S.A, Madrid, Spain) à partir de pré-cultures avec une température et un temps d'incubation égaux à 37 °C / 24 h respectivement.

Le milieu Mueller-Hinton (réf. TM 325, TITAN BIOTECH LTD, Rajasthan, India) au pH égal à $7,3 \pm 0,2$ gélose molle, est employé pour mettre en avant la sensibilité des bactéries d'essai sélectionnées aux chitosane et propolis extraits à partir de carapaces de crevettes et d'extrait de propolis pur. Ces milieux de culture sont stérilisés dans un autoclave (SANO clav) réglé à 121 °C pendant 15 min.

III.2 Méthodes :

III.2.1 Prétraitement des carapaces de crevettes :

Avant de procéder à l'extraction de la chitine il nous a été impératif de laver consciencieusement les coquilles de crevettes à l'eau du robinet afin d'éliminer les fragments de chair et tissus résiduels puis de les laisser sécher sous la chaleur du soleil 12 heures selon (P. Padida et al., 2020 ; Al-dubakel & Alshatty, 2018). Après cela, les coquilles séchées ont

été broyées et tamisées à de différents diamètres inclus entre 500 μm et 150 μm nous permettant l'obtention de notre farine de carapaces. La figure 8 illustre en photos originales les étapes clés du prétraitement des carapaces de crevette recyclées.

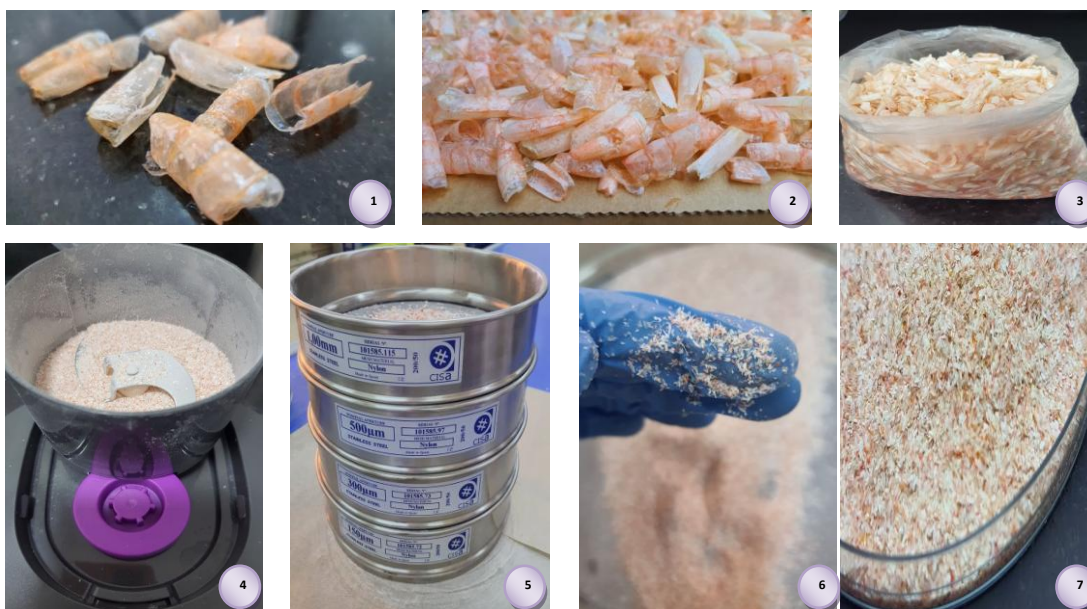


Figure 8 : Etapes de prétraitement de carapaces de crevettes (**originales**).

¹ : carapaces lavées ; ² : séchage ; ³ : carapaces sèches ; ⁴ : broyage ; ⁵ : tamisage ; ^{6/7} : farine de carapaces.

III.2.2 Extraction de chitine / chitosane :

Le chitosane doit être extrait des carapaces de crustacés par un processus complexe impliquant une déminéralisation, une déprotéinisation et une désacétylation. Ces processus nécessitent un acide et une base forts avec l'aide d'une température élevée pour décomposer la structure complexe de la coquille, extraire la chitine et ensuite la transformer en chitosane (Suyotha et al., 2021). Tous les produits chimiques utilisés dans cette étude étaient de qualité analytique (Trung et al., 2020).

La figure 9 représente les deux phases de production de la chitine puis sa transformation en chitosane du deuxième essai d'extraction du chitosane à partir de la farine de carapace à 300 μm suivant le protocole de Youcefi & Riazi, (2015).



Figure 9 : Production de chitine puis transformation en chitosane lors du deuxième essai (originales).

¹ : déminéralisation ; ² : déprotéinisation ; ³ : désacétylation.

Après obtention du poids sec de la chitine ainsi que celui du chitosane pour chaque essai, nous avons calculé les rendements à l'aide des équations suivantes (Shin et al., 2019) :

$$\text{Rendement en chitine (\%)} = \left(\frac{\text{poids de chitine}}{\text{poids de la farine des carapaces de crevettes}} \right) \times 100$$

$$\text{Rendement en chitosane (\%)} = \left(\frac{\text{poids du chitosane}}{\text{poids de chitine}} \right) \times 100$$

III.2.3 Solubilisation du chitosane produit :

0,5 g de poudre de chitosane a été dissoute dans 50 ml de solution d'acide acétique à différentes concentrations de solvant d'acide acétique (1, 1,5 et 2 % (v/v)) (Lukman Hekiem et al., 2021). Suivi d'une agitation de 4 à 8 h sur une plaque chauffante réglée à 70 °C.

III.2.4 Mesure des paramètres physicochimiques des chitosanes extraits :

III.2.4.1 Dosage du taux de cendres :

La teneur totale en cendres (W_{TA}) a été déterminée en introduisant le creuset dans le four à moufle (réf. PROTHERM furnaces, PLF 110/6, Ankara, TURKEY) réglé à 525 ± 25 °C durant 1 h puis la laisser refroidir dans le dessiccateur. Après refroidissement, peser à 0,001 g près environ 2 g de l'échantillon puis chauffer le couple capsule/échantillon

durant 2 h à la même température cité jusqu'à carbonisation complète de la prise d'essai (figure 10). Ces opérations de chauffage, refroidissement au dessiccateur et de pesage ont été répétées jusqu'à ce que la différence entre deux pesées successives n'excède pas 0,0005 g. Le résultat a été obtenu à l'aide de l'équation suivante :

$$W_{TA} = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1} \times 100 \%$$

Avec :

m_1 : est la masse en grammes du creuset vide ;

m_2 : est la masse en grammes du creuset et de la prise d'essai ;

m_3 : est la masse en grammes du creuset et du résidu obtenu lors de la détermination

(JO N°3, 2018) et (ISO 1575 : 1987).

La teneur en cendres de chaque échantillon représente la teneur en composés inorganiques (Acosta et al., 2022).



Figure 10 : Etapes de dosage de la teneur en cendres totales (**originales**).

¹ : creusets contenant les extraits de chitosanes ; ² : calcination ; ³ : refroidissement et déshumidification.

III.2.4.2 Estimation du taux de solubilisation :

La solubilité du chitosane a été estimée à l'aide de la transmittance à 630 nm de la suspension mère d'E3 solubilisée dans de l'acide acétique à 1,5 % puis diluée à des concentrations croissantes allant de 0,1 % à 1,0 % et mesurées à l'aide d'un spectrophotomètre (réf. PharmaSpec UV-1700, KYOTO, JAPAN). Une approche intrinsèque pour relier tous les facteurs à la solubilité du chitosane passe par le degré d'ionisation de ses groupes amine

dépendante de la topologie, la masse molaire et du degré de désacétylation de l'échantillon (Giraldo & Rivas, 2021).

III.2.5 Extraction de la propolis :

La technique employée est une optimisation partant du principe du protocole d'extraction de (Boisard, 2017). 15 g de propolis ont été additionnés et dissouts dans 100 ml d'éthanol à 96 % (réf. 603-002-00-5, SIGMA-ALDRICH, Germany) sous agitation continue à 100 °C avec un appareil à reflux pendant 1 h, puis la suspension a été filtrée à l'aide d'un papier Wattman N°1 et centrifugée pendant 30 min (réf. Centrifugeuse SIGMA 2 - 6). Le surnageant obtenu est évaporé dans un rota vapeur (réf. BUCHI, Rotavapor R – 210, Switzerland) à 45 °C (réf. BUCHI, Heating Bath B – 491, Switzerland) pendant 10 min. L'extrait a été versé dans une boîte de Pétri en verre et déposer dans une étuve (Mettler, Beschickung – Loading Modell 100 – 800, Allemagne) pour déshumidification. La figure 11 représente les étapes en photos de cette extraction.

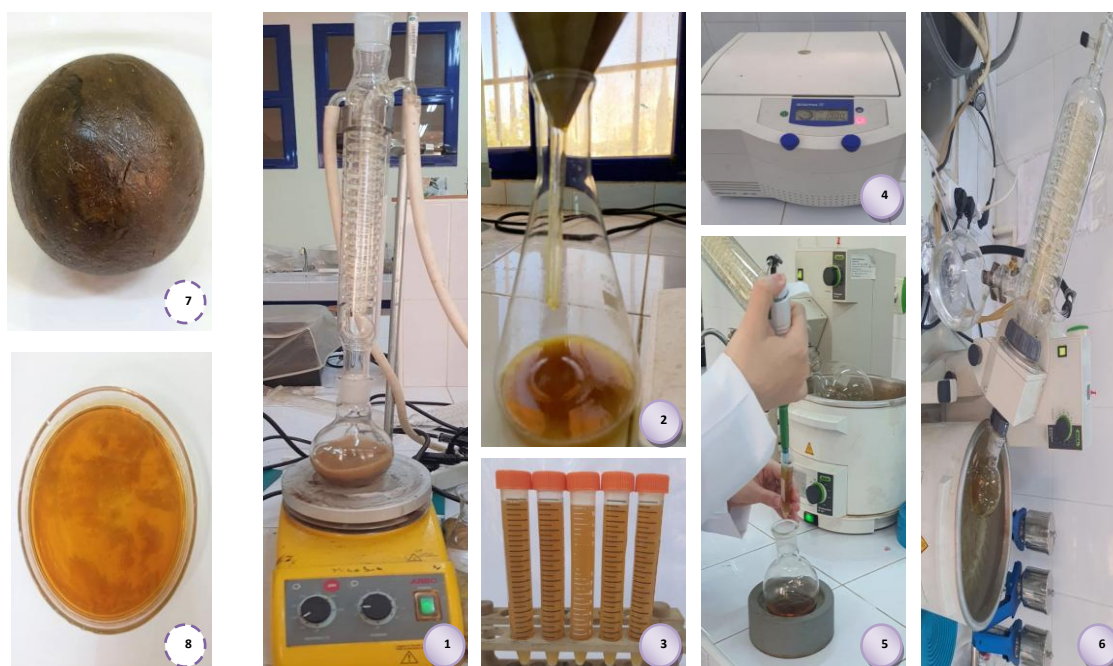


Figure 11 : Etapes d'extraction de la propolis (**originales**).

¹ : chauffage à reflux ; ² : filtration ; ^{3/4} : centrifugation ; ⁵ : surnageant ; ⁶ : évaporation de l'éthanol ;
⁷ : propolis ; ⁸ : extrait de propolis.

III.2.5.1 Calcul du rendement de la propolis :

Le rendement est exprimé en pourcentage de poids (% w/w) (Šuran et al., 2021) selon l'équation suivante (De Zordi et al., 2014) :

$$\text{Rendement de la propolis} = \frac{\text{poids extrait}}{\text{poids du matériau de départ}} \times 100$$

III.2.6 Revivification et conservation des souches:

Avant le test antibactérien, les bactéries cibles doivent être préparées en transférant la culture d'une pente réfrigérée dans du BHI, milieu non sélectif (Moradi et al., 2021). Les deux souches bactériennes ont été conservées dans des cryotubes additionnés de 7,0 % (vol / vol) de diméthylsulfoxyde (DMSO) à -80 °C. Avant les expérimentations de la partie microbiologiques, nos pathogènes ont été striées sur de la gélose Brain Heart Infusion (BHI ; réf. 804251, Laboratoire Conda S.A, Madrid, Spain) plus agar-agar et incubées une nuit à 37 °C, puis une seule colonie de chaque plaque a été transférée avec une anse stérile dans 3 ml de BHI (réf. 804251, Laboratoire Conda S.A, Madrid, Spain) et incubée une nuit à 37 °C sans agitation. Pour préparer les cultures de travail finales, 9 ml de BHI stérile ont été inoculés avec la culture d'une nuit et laissée en incubation à 37 °C pendant 24 h sans agitation (Ekonomou et al., 2020).

III.2.7 Evolution de la cinétique de croissance bactérienne :

Il est bien connu que le stade de croissance des micro-organismes a une influence importante sur la capacité antibactérienne du chitosane et de ses dérivés (Li & Zhuang, 2020) nous conduisant à nous focaliser sur l'étude de l'évolution de la croissance d'*Escherichia coli* ATCC 8739 et *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 a été effectuée selon le protocole employé par (Üçok & Sert, 2020). La croissance bactérienne pendant 28 h à 37 °C a été surveillée par dénombrement des cellules vivantes par comptage sur plaque de gélose sur gélose BHI au pH $7,4 \pm 0,2$, milieu non sélectif et mesure de l'absorbance à 600 nm (A_{600}) à l'aide d'un spectrophotomètre (PharmaSpec UV-1700, KYOTO, JAPAN). La valeur représentative du taux de croissance spécifique aux deux pathogènes, a été calculée à partir de la pente du graphique tracé se basant sur le logarithme naturel de la croissance par rapport au temps.

III.2.8 Activité antibactérienne :

III.2.8.1 Evaluation de la sensibilité des souches pathogènes aux extraits de chitosane et de la propolis :

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits étudiés a été réalisée se basant sur le principe du test de diffusion sur gélose selon (Kubiliene et al., 2015). Après incubation des cultures d'*Escherichia coli* ATCC 8739 et *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 à 37 °C de 6 et 4 heures dans du BHI (Brain Heart Infusion) respectivement, 1 ml de la suspension cellulaire a été ensemencé en profondeur dans du milieu Mueller-Hinton gélose molle refroidi à 45 °C et soigneusement agité. 7 puits de 5 mm de diamètre en moyenne ont été creusés après solidification totale du milieu, puis ont été remplis à l'aide d'une micropipette à raison de 80 µl de : témoin négatif : diméthylsulfoxyde (DMSO), témoin positif : antibiotique (azithromycine 500 mg) et des différentes concentrations de chitosane et de propolis (figure 12).

Les concentrations du chitosane et de la propolis varient de (0,5 %, 1 %, 1,5 %, 2 % en plus d'un extrait de chitosane pur) et de (6 %, 8 %, 10 %, 12 % jusqu'à 40 %) respectivement (figure 13) et celles de la synergie entre propolis et chitosane se représentent ainsi (50 % / 50 % - 25 % propolis / 75 % chitosane - 10 % propolis / 90 % chitosane).

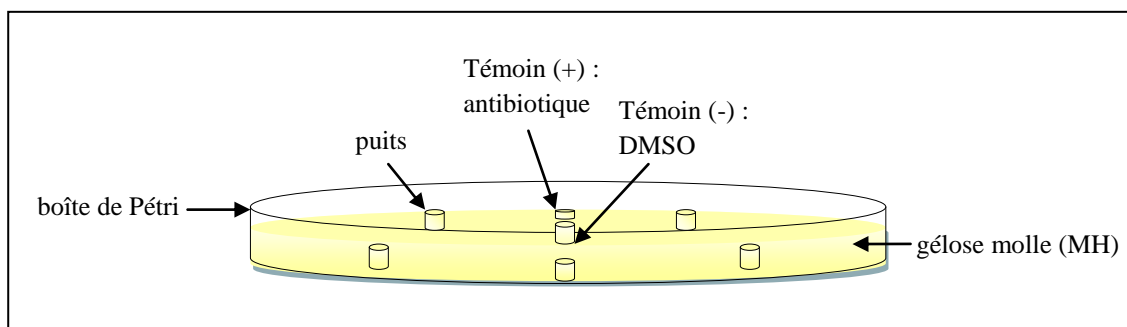


Figure 12 : Boîte de Pétri pour évaluation de la sensibilité des pathogènes envers nos extraits avec la technique des puits (**originale**).

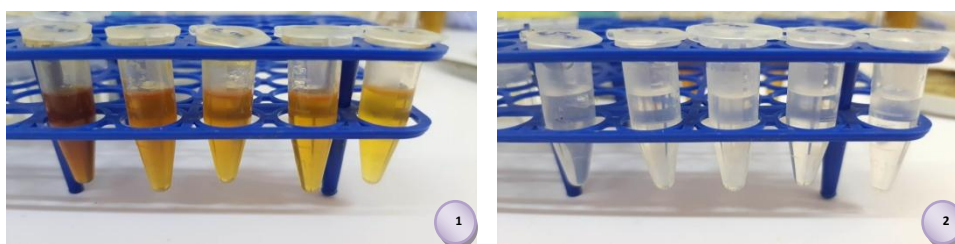


Figure 13 : Différentes concentrations en chitosane et en propolis (**originales**).

III.2.8.2 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) :

L'effet antibactérien du chitosane E3, de la propolis et étude de cet même effet en synergie de ces deux derniers aux concentrations : (50 % / 50 % - 25 % propolis / 75 % chitosane - 10 % propolis / 90 % chitosane) sur d'*Escherichia coli* ATCC 8739 et *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 a été évalué par détermination de la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) en utilisant la méthode de micro-dilutions en bouillon, partant du même principe de celle qui a été réalisée par (Lima, 2020). Le chitosane et la propolis ont été dilué dans du DMSO atteignant des concentrations allant de 0,5 à 2 % et de 6 à 40 % respectivement. Des plaques à 96 puits (Iwaki brand, Asahi Techno Glass, Japan) ont été préparées tel suit : 100 µl de bouillon BHI + 100 µl des dilutions en série préalablement faites + 100 µl de l'inoculum, avec à la chaîne les derniers puits représentatifs des deux témoins négatif et positif et un test de répétabilité de deux essais. Après 24 h d'incubation à 37 °C, la valeur CMI a été définie comme la plus faible concentration de nos extraits capable d'inhiber tout développement bactérien c'est-à-dire obtention d'une absence totale de turbidité. Nous avons évalué le degré de turbidité par spectrométrie à une absorbance de 630 nm dans un lecteur à microplaques (réf. Microplate Reader, RT-2100C).

Résultats et discussion

IV.1 Rendement de chitine et de chitosane :

La chitine et le chitosane obtenus sont de couleurs : blanchâtre aux sous teintes orangeâtes et blanc pâle respectivement (figure14). Après déminéralisation puis déprotéinisation, les rendements de chitine et de chitosane pour les essais E1₅, E1₃, E2 et E3 variaient de 19,35 % à 34 % et de 38,24 % à 97,24 % respectivement. Selon des études antérieures dont celle de **Shin et al., (2019)**, ont mentionné que le rendement de chitosane issus des homards et crabes varie de 74,3 % et de 74,6 % respectivement, ce qui évoque que notre protocole de base modifié d'extraction de chitine et chitosane est bien étudié. Cela peut-être dû à la dépolymérisation du chitosane, à la perte de la masse de l'échantillon due à l'élimination excessive des groupes acétyle pendant la désacétylation et à la perte de particules de chitosane pendant le lavage (**Hossain & Iqbal, 2014**).



Figure 14 : Chitine et chitosane du 2^{ème} essai (**originales**).

IV.2 Paramètres physico-chimiques des extraits de chitosane :

IV.2.1 Teneur en cendres totales (W_{TA}) :

Les teneurs en cendres totales obtenues au cours de nos expérimentations concernant nos différents extraits de chitosane (E1₅, E1₃, E2 et E3) sont représentés dans le tableau 7, et la figure 15 illustre les creusets avec prises d'essais calcinées.

Tableau 7 : Estimation de la teneur en cendres totales.

Extrait de chitosane	E1 ₅	E1 ₃	E2	E3
Teneur en cendres totales (W_{TA}) en (%)	0,0021 %	0,0026 %	0,0005 %	0 %

Mohan et al., (2020) indiquent que la teneur en cendres de la chitine et du chitosane de crevettes est de l'ordre de 0,03 % et qu'un grade de chitosane de grande valeur devrait avoir une teneur en cendres inférieure à 1 % signifiant ainsi que nos extraits ont correctement été déminéralisés, marquant que l'extrait E3 l'a été totalement soulignant sa valeur supérieure par rapport aux autres extraits.



Figure 15 : Résultat visuel de la calcination des différents extraits de chitosane (**originale**).

IV.2.2 Taux de solubilisation du chitosane :

Etant donné que le terme chitosane fait référence à des polymères de multiples tailles et configurations de chaînes, la solubilité de ce polymère ne doit pas être généralisée uniquement sur un seul paramètre de caractérisation. Une approche intrinsèque joignant tous ces facteurs à la solubilité est de mesurer la longueur d'onde (**Giraldo & Rivas, 2021**) à une A_{630} .

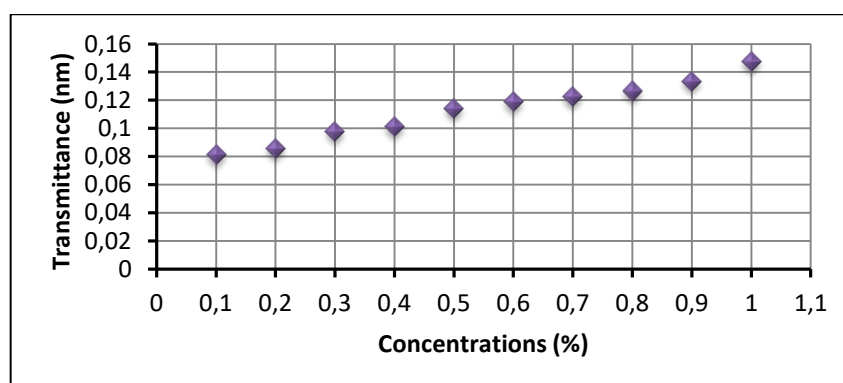


Figure 16 : Estimation de la solubilisation par mesure de transmittance à 630 nm.

On remarque une augmentation de l'absorbance avec l'augmentation du degré de la concentration en chitosane, ce qui explique le processus de transition d'un système

partiellement solubilisé à un système complètement dissous, c'est-à-dire qu'à la concentration 1 % de chitosane il y a eu une solubilisation remarquable (figure 16). Selon **Giraldo & Rivas, (2021)**, dans ce processus de transition, lorsqu'un échantillon de chitosane est soumis à une solubilisation en milieu acide, les groupes amines initialement ionisés sont supposés se trouver dans les macromolécules à la surface de la poudre de chitosane. La solubilisation complète d'un échantillon de chitosane se produira lorsque le degré moyen d'ionisation dans toutes les macromolécules surmonte les forces de cohésion entre les macromolécules par l'action de la répulsion électrostatique, qui dépendra des paramètres caractéristiques du chitosane évalué. Il existe plusieurs facteurs critiques l'affectant, notamment la température et le temps de désacétylation (au moins 85 %), la concentration en alcali, les traitements antérieurs appliqués à l'isolement de la chitine, le rapport de la chitine à la solution alcaline et la taille des particules (**Hossain & Iqbal, 2014**).

IV.3 Rendement de la propolis :

L'extrait éthanolique de propolis obtenu est de couleur marron aux sous teintes jaunâtres, à l'aspect d'une pâte très collante tel témoigné par la figure 17 ci-dessous et au rendement égal à 17,85 %. Notre résultat était compris dans l'intervalle de ceux obtenus pour la propolis marocaine, qui présentaient respectivement 18,3 % et 15,8 % pour les extraits éthanoliques de Sefrou et de Oued amlil (**Aboulghazi et al., 2022**).

La réponse de rendement expérimental de **De Zordi et al., (2014)** a été supposée être affectée par trois facteurs dont la pression, la température et le temps d'extraction lors d'une extraction de la propolis par ultrasons et SCO_2 amenant à obtenir un rendement compris dans un intervalle entre 2,695 et 10,79 % et constatant une amélioration du rendement d'extraction (>10 %) suite à l'augmentation de la pression et du temps avec 270 bar et 200 bar à 40 °C avec des temps d'extraction longs (respectivement 5,5 et 6,5 h), tandis que celui-ci semble être indépendant de la température. Alors que les rendements les plus élevés en extrait de propolis sont obtenus par l'extraction éthanolique de la propolis à 70 - 96 % d'éthanol partant du principe de la macération donnant un rendement en propolis égal à $25,2 \pm 0,08$ % pour **Šuran et al., (2021)**.

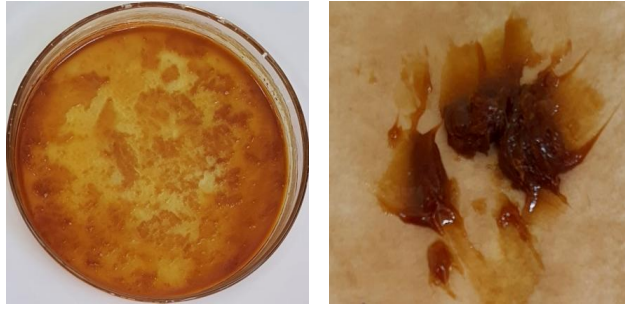


Figure 17 : Extrait éthanolique de propolis obtenu (originale).

IV.4 Cinétique de croissance d'*Escherichia coli* ATCC 8739 et *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 :

La croissance ainsi que les A_{600} d'*E. coli* ATCC 8739 et de *S. aureus* ATCC 6538 ont été étudiées en fonction du temps (figures 18).

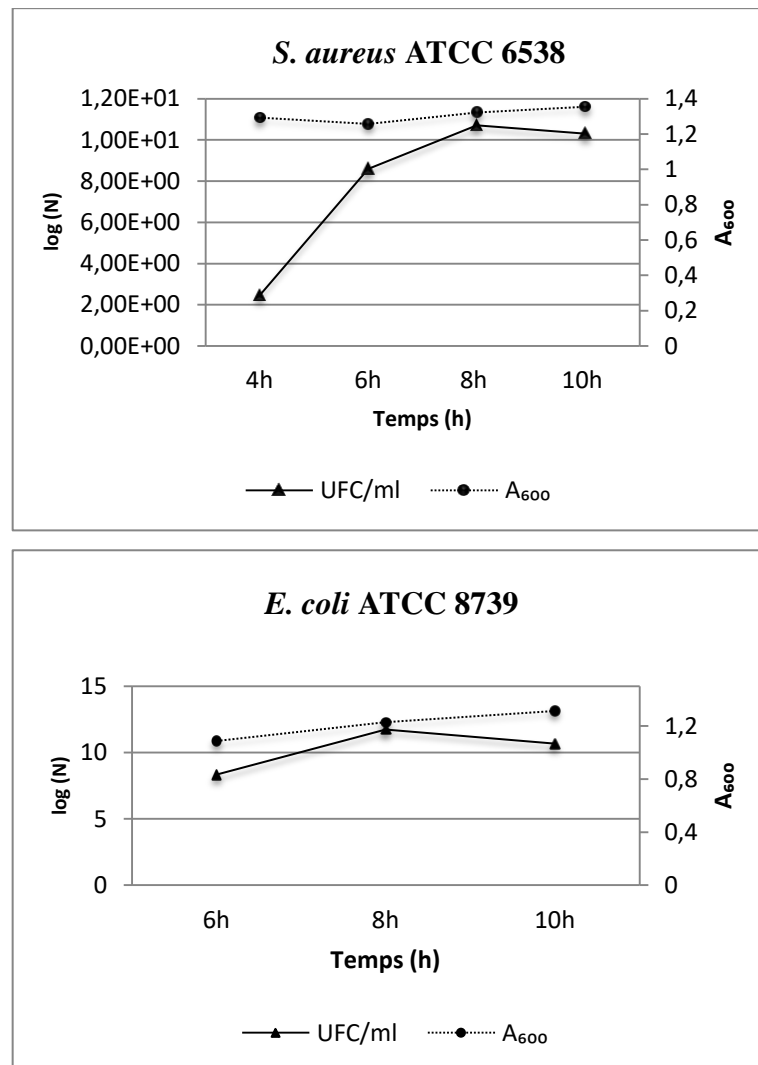


Figure 18 : Courbes de croissance et A_{600} de *S. aureus* ATCC 6538 et d'*E. coli* ATCC 8739 incubées en aérobiose dans un bouillon BHI à 37 °C.

Les croissances de *S. aureus* ATCC 6538 et d'*E. coli* ATCC 8739 ont été observées après 6 à 4 heures d'incubation respectivement avec une charge microbienne de 10^8 UFC/ml comprises dans la phase logarithmique de celles-ci.

IV.5 Résultats de l'activité antibactérienne :

IV.5.1 Pouvoir antibactérien des extraits de chitosane et de la propolis mis en évidence par la méthode des puits :

L'inhibition microbienne a été observée pour les deux extraits de chitosane E2 et E3 avec les deux bactéries pathogènes *E. coli* ATCC 8739 et *S. aureus* ATCC 6538 et la propolis marque un pouvoir inhibiteur uniquement pour *S. aureus* ATCC 6538 (figure 19). L'effet synergétique (effet combiné des deux molécules bioactives) a été observé pour des diamètres d'inhibition allant de $2,41 \pm 0,09$ mm à $6,18 \pm 0,58$ mm, la diminution de l'activité de la propolis incorporée dans les films de chitosane par rapport à celle de la propolis pure est due à une perte partielle potentielle de composés phénoliques qui ont interagi avec des groupes fonctionnels de chitosane et sont donc incapables de se diffuser à travers le milieu de gélose adjacent, réduisant ainsi son pouvoir antagoniste, cela peut être dû aussi à une libération plus lente voir contrôlée des composés actifs du chitosane (**Siripatrawan & Vitchayakitti, 2016**). L'étude de **Torlak & Sert, (2013)** sur l'efficacité antibactérienne du film enduit de chitosane a remarquablement été améliorée par l'ajout de la propolis contre les bactéries à Gram-positif et à Gram-négatif testées.

L'extrait de chitosane E3 pur a montré un pouvoir antibactérien appréciable avec des diamètres d'inhibition allant de $12,84 \pm 1,63$ mm et de $15,77 \pm 0,79$ mm avec *S. aureus* et *E. coli* respectivement. La propolis montre un pouvoir antibactérien important avec des diamètres d'inhibition de $14,95 \pm 0,45$ mm et de $14,58 \pm 0,95$ mm pour les concentrations les plus réduites vis-à-vis de *S. aureus* ATCC 6538 (6 % et 8 % de propolis) (figure 20).

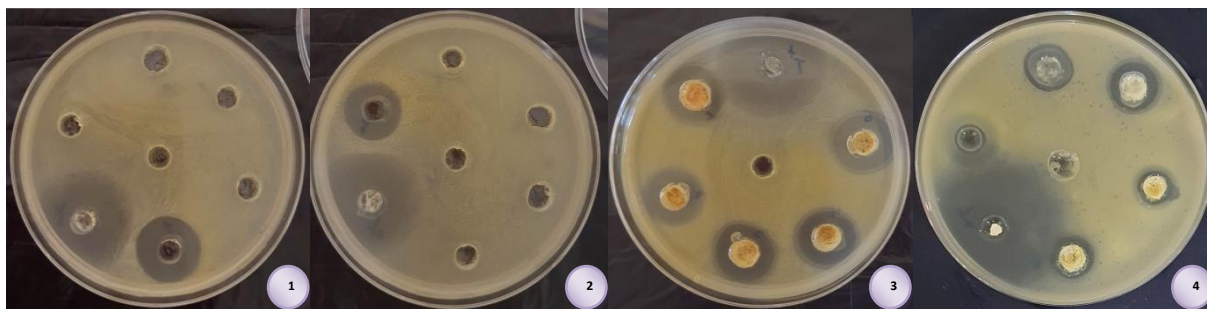


Figure 19 : Sensibilité d'*E. coli* ATCC 8739 et *S. aureus* ATCC 6538 aux extraits de chitosane et de propolis (**originales**).

¹: Ch. E3/*E. coli* ; ²: Ch. E3/*S. aureus* ; ³: Pro/*S. aureus* ; ⁴: (Ch. E2 + Pro)/*S. aureus*.

Concernant la sensibilité des pathogènes de références (*E. coli* ATCC 8739 et *S. aureus* ATCC 6538) au chitosane, les recherches faites par **Li & Zhuang, (2020)** montrent que lorsque la concentration du chitosane est élevée, celui-ci bloque les échanges des cellules bactériennes et donc peut inhiber et réduire l'activité bactérienne, d'où un résultat positif avec les extraits E2 et E3.

Les travaux de **Shin et al., (2019)** relèvent des halos d'inhibition bactérienne de l'ordre de 10 mm contre *S. aureus* et de 8 mm contre *E. coli* aussi d'après **Almuhayawi, (2020)** l'efficacité la plus élevée de la propolis contre les bactéries Gram-positif contrairement aux bactéries Gram-négatif pourrait être due aux enzymes hydrolytiques produites dans la structure protéique de la membrane externe des bactéries Gram-négatif, de telles enzymes compromettent la fonction des ingrédients actifs de la propolis, c'est la raison pour laquelle nous avons noté une activité antibactérienne nulle contre *E. coli* ATCC 8739.

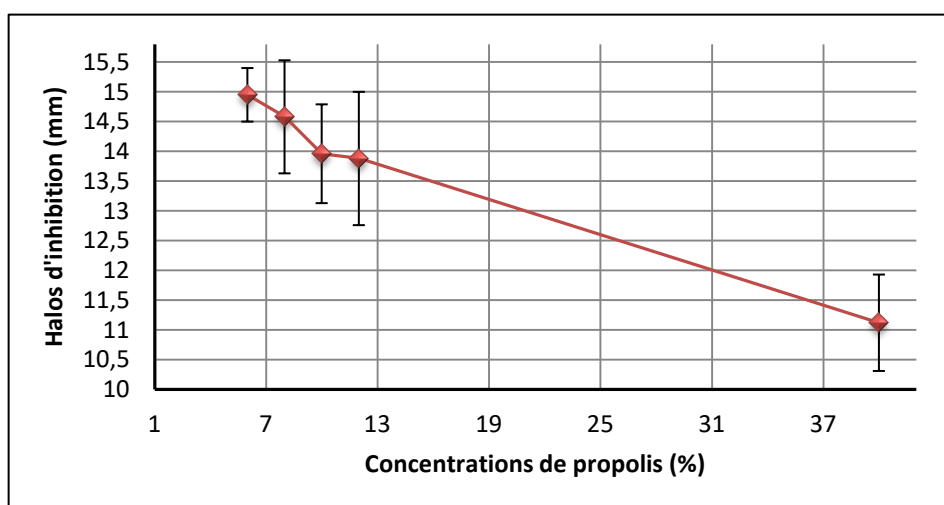


Figure 20 : Diamètres représentatifs de la sensibilité de la souche *S. aureus* ATCC 6538 aux différentes concentrations de la propolis.

IV.5.2 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) :

Les résultats obtenus mettent en évidence le pouvoir antibactérien des extraits envers les deux souches bactériennes *E. coli* ATCC 8739 et *S. aureus* ATCC 6538, la concentration minimale inhibitrice pour le chitosane E3 est de : 0,5 % et 2 % pour *S. aureus* ATCC 6538 et *E. coli* ATCC 8739 respectivement. Pour la propolis nous avons notés que l'intervalle des absorbances est de 2,441 à 2,195 pour la bactérie *S. aureus* ATCC 6538. Nous avons observé que la CMI pour l'effet combiné est de 25 % / 75 % (chitosane / propolis) pour les deux pathogènes *S. aureus* ATCC 6538 et *E. coli* ATCC 8739.

Les microplaques après incubation ainsi que les lectures des A_{630} pour le chitosane, la propolis et la combinaison entre les deux apparaissent dans la figure 21.

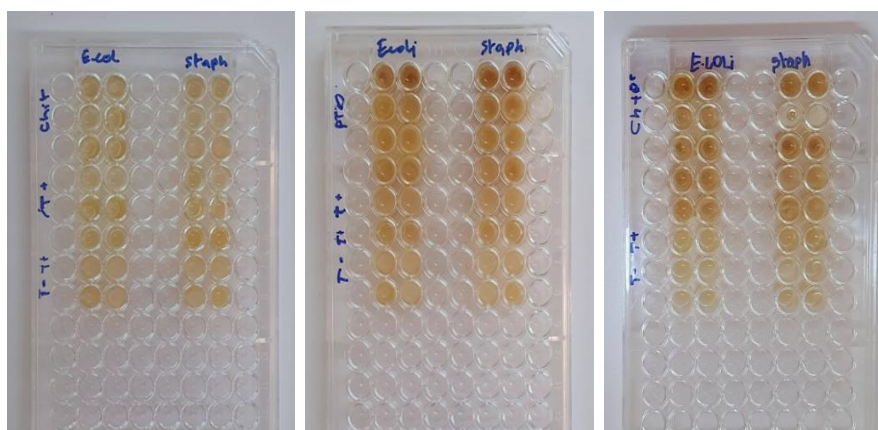


Figure 21 : Microplaques post incubation pour la détermination des CMI (originales).

Les CMI obtenues pour l'extrait E3 de chitosane étaient meilleures que celles obtenues pour le médicament de référence Azithromycine 500 mg pour *S. aureus* ATCC 6538, ce qui est en concordance avec les résultats de **Youcefi & Riazi, (2015)**, qui ont élucidé l'efficacité antibactérienne du chitosane contre *S. aureus*. En outre, **Beaulieu, (2007)** a mis en avant l'effet bactéricide de différentes concentrations de multiples chitosanes sur des colonies de staphylocoques dorés et d'*E. coli* avec un taux d'inhibition de 99 %. Ces résultats indiquent que le chitosane manifeste une activité antibactérienne efficace contre les bactéries à Gram-négatif telle *E. coli* s'avérant être les plus sensibles par rapport aux bactéries à Gram-positif (*Bacillus cereus* et *S. aureus*) révélant à leur tour une sensibilité moyenne.

En parallèle, l'effet antibactérien de la propolis c'est avéré moindre que celui du chitosane contre les deux pathogènes. Plusieurs études ont évalué cette propriété biologique contre un large panel de bactéries Gram-positif et Gram-négatif et en général, on remarque

que celle-ci est plus importante contre des bactéries Gram-positif par rapport aux bactéries Gram-négatif (**Koo et al., 2002 ; Kosalec et al., 2005 ; Boyanova et al., 2005**).

L'authentification qu'un produit est doté d'un effet bactéricide est un très grand défi consistant à trouver la bonne combinaison de variables lors d'une synergie entre deux bioactifs. Un effet synergique entre le chitosane et la propolis en raison de leur affinité chimique a déjà été rapporté dans la littérature. De plus, l'effet synergique du chitosane et de la propolis dépend des bactéries testées (**Correa-pacheco et al., 2019**).

Il a été rapporté par **Siripatrawan & Vitchayakitti, (2016)** suite aux travaux sur l'amélioration des propriétés fonctionnelles des films de chitosane comme emballage alimentaire actif par l'incorporation de la propolis que l'activité antimicrobienne des films a augmentée significativement en raison des flavonoïdes (rutine, quercétine et naringénine) et des polyphénols de la propolis par différentes actions notamment l'altération de la perméabilité membranaire, l'inhibition de la synthèse d'ADN et d'ARN, la modification chimique de la membrane cellulaire, du cytoplasme, des enzymes et des protéines et la déformation de la cellule microbienne entraînant par conséquent la mort cellulaire.

D'après l'ensemble des résultats de nos multiples expérimentations, il s'est avéré que notre extraction optimisée de chitosane partant de poudre de carapaces à 150 µm de diamètre, a été dotée d'une calcination totale image d'une déminéralisation complète, du meilleur rendement de chitosane (97,24 %) ainsi que d'une activité antibactérienne remarquable contre les deux souche bactériennes *E. coli* ATCC 8739 et *S. aureus* ATCC 6538.

Conclusión

Le présent travail a porté sur la valorisation de produits polymères issus de déchets tel que le chitosane et de sous produits de la ruche comme la propolis rarement exploités jusqu'ici dans notre territoire national, le périmètre de notre étude concerne l'effet combiné des deux molécules bioactives.

Les différents extraits de chitosane ont montrés de bonnes caractéristiques physicochimiques, les estimations des rendements de : E1₅, E1₃, E2 et E3 sont respectivement égaux à 38,24 %, 75,20 %, 93,76 % et 97,24 %. Quand à l'extrait éthanolique de la propolis de AIN YUCEF, donne un rendement égal à 17,85 %.

L'activité antibactérienne confirmée par le test de diffusion sur milieu MH gélose molle et l'estimation de la CMI, témoigne que le chitosane possède un effet inhibiteur contre les deux souches bactériennes *S. aureus* ATCC 6538 et *E. coli* ATCC 8739 avec des diamètres d'inhibitions des extraits E2 et E3 : $11,52 \pm 1,36$ mm et $12,84 \pm 1,63$ mm et $11,97 \pm 0,16$ mm et $15,77 \pm 0,79$ mm respectivement, notant que les valeurs CMI obtenues pour l'extrait E3 de chitosane étaient meilleures que celles obtenues pour le médicament de référence Azithromycine 500 mg. L'effet antibactérien de la propolis contre *S. aureus* ATCC 6538 donne un diamètre d'inhibition de l'ordre de $11,12 \pm 0,81$ mm, $13,82 \pm 1,12$ mm, $13,96 \pm 0,83$ mm, $14,58 \pm 0,95$ mm et $14,95 \pm 0,45$ mm pour les concentrations 40 %, 12 %, 10 %, 8 % et 6 % respectivement. Le mélange (combiné chitosane / propolis) n'a pas démontré de pouvoir antibactérien attendu démontré par d'autres auteurs, les résultats relevés se situent dans l'intervalle de $2,41 \pm 0,09$ mm à $6,18 \pm 0,58$ mm un effet presque négligeable.

L'extrait E3 avait montré un meilleur pouvoir de réduction de la charge microbienne de *S. aureus* et d'*E. coli* par rapport aux autres extraits de chitosane obtenus par optimisation des protocoles d'extraction. Nous avons noté que l'extrait éthanolique de la propolis a permis la diminution de la charge bactérienne observée pour *S. aureus*.

Dans le cadre de la gestion des déchets, notre étude suggère à encourager l'extraction de molécules bioactives dans le territoire national issues de déchets chitineux, sources de chitosane candidat naturel prometteur pour le développement durable et de l'économie circulaire, de même pour la propolis mal exploitée par les industriels malgré son fort pouvoir bactéricide. Nos perspectives visent à étudier et paramétrer l'optimisation du mélange combiné chitosane / propolis qui peut représenter une valeur ajoutée pour le développement durable.

*Références
bibliographiques*

- Almuhayawi, M. S. (2020).** Propolis as a novel antibacterial agent. In *Saudi Journal of Biological Sciences* (Vol. 27, Issue 11, pp. 3079–3086). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.09.016>
- Alvarenga, L., Cardozo, L. F. M. F., Borges, N. A., Chermut, T. R., Ribeiro, M., Leite, M., Shiels, P. G., Stenvinkel, P., & Mafra, D. (2021).** To bee or not to bee? The bee extract propolis as a bioactive compound in the burden of lifestyle diseases. In *Nutrition* (Vol. 83). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2020.111094>
- Almuhayawi, M. S. (2020).** Propolis as a novel antibacterial agent. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(11), 3079–3086. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.09.016>
- Aranaz, I., Alcántara, A. R., Civera, M. C., Arias, C., Elorza, B., Caballero, A. H., & Acosta, N. (2021).** Chitosan: An overview of its properties and applications. *Polymers*, 13(19). <https://doi.org/10.3390/polym13193256>

B

- Balica, G., Vostinaru, O., Stefanescu, C., Mogosan, C., Iaru, I., Cristina, A., & Pop, C. E. (2021).** Potential role of propolis in the prevention and treatment of metabolic diseases. In *Plants* (Vol. 10, Issue 5). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/plants10050883>
- Beaulieu, C. (2007).** Les effets multiples du chitosane. *Phytotherapie*, 5(SUPPL. 1), 38–45. <https://doi.org/10.1007/s10298-007-0233-7>
- Berretta, A. A., Silveira, M. A. D., Córdor Capcha, J. M., & De Jong, D. (2020).** Propolis and its potential against SARS-CoV-2 infection mechanisms and COVID-19 disease: Running title: Propolis against SARS-CoV-2 infection and COVID-19. In *Biomedicine and Pharmacotherapy* (Vol. 131). Elsevier Masson SAS. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110622>
- Boeing, T., Mejía, J. A. A., Ccana-Ccapatinta, G. V., Mariott, M., Melo Vilhena de Andrade Fonseca Da Silva, R. de C., de Souza, P., Mariano, L. N. B., Oliveira, G. R., da Rocha, I. M., da Costa, G. A., de Andrade, S. F., da Silva, L. M., & Bastos, J. K. (2021).** The gastroprotective effect of red propolis extract from Northeastern Brazil and the role of its isolated compounds. *Journal of Ethnopharmacology*, 267. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113623>

Boisard, S. (2017). d'extraits de propolis To cite this version : biologique d'extraits de propolis.

Boyanova, L., Gergova, G., Nikolov, R., Derejian, S., Lazarova, E., Katsarov, N., Mitov, I., & Krastev, Z. (2005). Communication Activity of Bulgarian propolis against 94 *Helicobacter pylori* strains in vitro by agar-well diffusion, agar dilution and disc diffusion methods. 481–483. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.45880-0>

C

Cao, W., Yue, L., & Wang, Z. (2019). High antibacterial activity of chitosan – molybdenum disulfide nanocomposite. *Carbohydrate Polymers*, 215(November 2018), 226–234. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.03.085>

Casadidio, C., Peregrina, D. V., Gigliobianco, M. R., Deng, S., Censi, R., & Di Martino, P. (2019). Chitin and chitosans: Characteristics, eco-friendly processes, and applications in cosmetic science. *Marine Drugs*, 17(6). <https://doi.org/10.3390/md17060369>

Castro Coelho, S., Nogueiro Estevinho, B., & Rocha, F. (2021). Encapsulation in food industry with emerging electrohydrodynamic techniques: Electrospinning and electrospraying – A review. *Food Chemistry*, 339(July 2020), 127850. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127850>

Chang, S. H., Lin, H. T. V., Wu, G. J., & Tsai, G. J. (2015). pH Effects on solubility, zeta potential, and correlation between antibacterial activity and molecular weight of chitosan. *Carbohydrate Polymers*, 134, 74–81. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.07.072>

Chauhan D. N., Singh P. R., Shah K. et Chauhan N. S. (2020). Natural Oral Care in Dental Therapy. Edition John Wiley & Sons. 448 p.

Chen, K. Y., & Zeng, S. Y. (2018). Fabrication of quaternized chitosan nanoparticles using tripolyphosphate/genipin dual cross-linkers as a protein delivery system. *Polymers*, 10(11). <https://doi.org/10.3390/polym10111226>

Confederat, L. G., Tuchilus, C. G., Dragan, M., Sha'at, M., & Dragostin, O. M. (2021). Preparation and Antimicrobial Activity of Chitosan and Its Derivatives: A Concise

Review. *Molecules* (Basel, Switzerland), 26(12).
<https://doi.org/10.3390/molecules26123694>

Correa-pacheco, Z. N., Bautista-baños, S., Ramos-garcía, M. D. L., Martínez-gonzález, C., & Hernández-romano, J. (2019). Progress in Organic Coatings Physicochemical characterization and antimicrobial activity of edible propolis-chitosan nanoparticle films. *Progress in Organic Coatings*, 137(September), 105326.
<https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2019.105326>

Cruz Sanchez, F. A., Boudaoud, H., Hoppe, S., & Camargo, M. (2017). Polymer recycling in an open-source additive manufacturing context: Mechanical issues. *Additive Manufacturing*, 17, 87–105. <https://doi.org/10.1016/j.addma.2017.05.013>

D

De Zordi, N., Cortesi, A., Kikic, I., Moneghini, M., Solinas, D., Innocenti, G., Portolan, A., Baratto, G., & Dall'Acqua, S. (2014). The supercritical carbon dioxide extraction of polyphenols from Propolis: A central composite design approach. *Journal of Supercritical Fluids*, 95, 491–498. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2014.10.006>

Di Capua, A., Bejarano, A., Adami, R., & Reverchon, E. (2018). Preparation and characterization of Chilean propolis coprecipitates using Supercritical Assisted Atomization. *Chemical Engineering Research and Design*, 136, 776–785.
<https://doi.org/10.1016/j.cherd.2018.06.037>

E

Eddouks M., Andrade-Cetto A., Heinrich M., De Feo V. et Cho W. C. (2021). Action Mechanisms of Traditional Medicinal Plants used to Control Type 2 Diabetes or Conditions of Metabolic Syndrome . Edition Frontiers Media SA.

Ekonomou, S. I., Bulut, S., Karatzas, K. A. G., & Boziaris, I. S. (2020). Inactivation of *Listeria monocytogenes* in raw and hot smoked trout filets by high hydrostatic pressure processing combined with liquid smoke and freezing. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 64(June), 102427. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102427>

El Knidri, H., Belaabed, R., Addaou, A., Laajeb, A., & Lahsini, A. (2018). Extraction,

chemical modification and characterization of chitin and chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*, 120, 1181–1189. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.08.139>

F

FAO (Food & Agriculture Organisation). (2020). La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture 2020. La durabilité en action. Rome. <https://doi.org/10.4060/ca9229fr>

Forma, E., & Bryś, M. (2021). Anticancer activity of propolis and its compounds. In *Nutrients* (Vol. 13, Issue 8). MDPI. <https://doi.org/10.3390/nu13082594>

G

Ghedira, K., Goetz, P., & Le Jeune, R. (2009). Practical Materia Medica: Propolis. *Phytotherapie*, 7(2), 100–105. <https://doi.org/10.1007/s10298-009-0377-8>

Giraldo, J. D., & Rivas, B. L. (2021). Direct ionization and solubility of chitosan in aqueous solutions with acetic acid. *Polymer Bulletin*, 78(3), 1465–1488. <https://doi.org/10.1007/s00289-020-03172-w>

Guan, G., Abul Kalam Azad, M., Lin, Y., Kim, S. W., Tian, Y., Liu, G., & Wang, H. (2019). Biological effects and applications of chitosan and chito-oligosaccharides. *Frontiers in Physiology*, 10(MAY), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00516>

H

Hazmi, A. T., Ahmad, F. B., Maziaty Akmal, M. H., & Ralib, A. A. M. (2021). Microbial chitosan for the fabrication of piezoelectric thin film. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 1173(1), 012043. <https://doi.org/10.1088/1757-899x/1173/1/012043>

Hossain, M. S., & Iqbal, A. (2014). Production and characterization of chitosan from shrimp waste. *J. Bangladesh Agril. Univ*, 12(1), 153–160.

Hossin, M. A., Al Shaqsi, N. H. K., Al Touby, S. S. J., & Al Sibani, M. A. (2021). A review of polymeric chitin extraction, characterization, and applications. *Arabian Journal*

of Geosciences, 14(18). <https://doi.org/10.1007/s12517-021-08239-0>

Hussein, M. A. M., Grinholc, M., Dena, A. S. A., El-Sherbiny, I. M., & Megahed, M. (2021). Boosting the antibacterial activity of chitosan–gold nanoparticles against antibiotic–resistant bacteria by *Punicagranatum* L. extract. *Carbohydrate Polymers*, 256(August 2020), 117498. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117498>

I

Ibrahim, M. E. E. D., & Alqurashi, R. M. (2022). Anti-fungal and antioxidant properties of propolis (bee glue) extracts. *International Journal of Food Microbiology*, 361. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109463>

International Organization for Standardization. (1987). Thé – Détermination des cendres totales (Standard ISO Numéro. 1575:1987). <https://www.iso.org/standard/6170.html>

J

Jaber, N., Al-Remawi, M., Al-Akayleh, F., Al-Muhtaseb, N., Al-Adham, I. S. I., & Collier, P. J. (2022). A review of the antiviral activity of Chitosan, including patented applications and its potential use against COVID-19. *Journal of Applied Microbiology*, 132(1), 41–58. <https://doi.org/10.1111/jam.15202>

Jafari S. M., Nabavi S. M. et Silva A. S. (2021). *Nutraceuticals and Cancer Signaling: Clinical Aspects and Mode of Action.* Edition Springer Nature. 652 p.

Jiang, Y., Yu, L., Hu, Y., Zhu, Z., Zhuang, C., Zhao, Y., & Zhong, Y. (2020). The preservation performance of chitosan coating with different molecular weight on strawberry using electrostatic spraying technique. *International Journal of Biological Macromolecules*, 151, 278–285. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.169>

K

Koo, H., Rosalen, P. L., Cury, J. A., Park, Y. K., & Bowen, W. H. (2002). Effects of compounds found in propolis on *Streptococcus mutans* growth and on glucosyltransferase activity. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46(5), 1302–1309. <https://doi.org/10.1128/AAC.46.5.1302-1309.2002>

- Kosalec, I., Pepeljnjak, S., Bakmaz, M., & Vladimir-Knezević, S. (2005).** Flavonoid analysis and antimicrobial activity of commercially available propolis products. *Acta Pharm. Dec*;55(4):423-30. PMID: 16375832.
- Kubiliene, L., Laugaliene, V., Pavilonis, A., Maruska, A., Majiene, D., & Barauskaite, K. (2015).** Alternative preparation of propolis extracts : comparison of their composition and biological activities. 1–7. <https://doi.org/10.1186/s12906-015-0677-5>
- Kurek-Górecka, A., Górecki, M., Rzepecka-Stojko, A., Balwierz, R., & Stojko, J. (2020).** Bee products in dermatology and skin care. In *Molecules* (Vol. 25, Issue 3). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/molecules25030556>

ℒ

- Li, J., & Zhuang, S. (2020).** Antibacterial activity of chitosan and its derivatives and their interaction mechanism with bacteria: Current state and perspectives. *European Polymer Journal*, 138(July), 109984. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2020.109984>
- Liew, K. Y., Kamise, N. I., Ong, H. M., Aw Yong, P. Y., Islam, F., Tan, J. W., & Tham, C. L. (2022).** Anti-Allergic Properties of Propolis: Evidence From Preclinical and Clinical Studies. *Frontiers in Pharmacology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.785371>
- Lima, T. M. T. De. (2020).** Assembly and antifungal effect of a new fluconazole-carrier nanosystem. 15, 273–285.
- Liu, Y., Yuan, Y., Duan, S., Li, C., Hu, B., Liu, A., Wu, D., Cui, H., Lin, L., He, J., & Wu, W. (2020).** Preparation and characterization of chitosan films with three kinds of molecular weight for food packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*, 155, 249–259. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.217>
- Lukman Hekiem, N. L., Md Ralib, A. A., Mohd Hatta, M. A., Ahmad, F. B., Nordin, A. N., Ab Rahim, R., & Za'bah, N. F. (2021).** Effect of chitosan dissolved in different acetic acid concentration towards VOC sensing performance of quartz crystal microbalance overlay with chitosan. *Materials Letters*, 291, 129524. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2021.129524>

M

- Maddaloni, M., Vassalini, I., & Alessandri, I. (2020).** Green Routes for the Development of Chitin/Chitosan Sustainable Hydrogels. *Sustainable Chemistry*, 1(3), 325–344. <https://doi.org/10.3390/suschem1030022>
- Meng, D., Garba, B., Ren, Y., Yao, M., Xia, X., Li, M., & Wang, Y. (2020).** Antifungal activity of chitosan against *Aspergillus ochraceus* and its possible mechanisms of action. *International Journal of Biological Macromolecules*, 158, 1063–1070. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.04.213>
- MINISTERE DU COMMERCE. Arrêté du 3 Safar 1439 correspondant au 24 octobre 2017 rendant obligatoire la méthode de détermination des cendres totales dans les épices. **Journal Officiel, n°3 du 24 janvier 2018**, pp. 24-25.
- Mohan, K., Ganesan, A. R., Muralisankar, T., Jayakumar, R., Sathishkumar, P., Uthayakumar, V., Chandirasekar, R., & Revathi, N. (2020).** Recent insights into the extraction, characterization, and bioactivities of chitin and chitosan from insects. *Trends in Food Science and Technology*, 105(May), 17–42. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.08.016>
- Moradi, M., Alaleh, S., Razavi, R., Rasouli, Y., Ibrahim, S. A., Ghorbani, M., Divsalar, E., Tajik, H., & Guimar, J. T. (2021).** Trends in Food Science & Technology Review of microbiological methods for testing protein and carbohydrate-based antimicrobial food packaging. 111(July 2020), 595–609. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.03.007>
- Moran, H. B. T., Turley, J. L., Andersson, M., & Lavelle, E. C. (2018).** Immunomodulatory properties of chitosan polymers. *Biomaterials*, 184(August), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2018.08.054>
- Moreno, M. A., Vallejo, A. M., Ballester, A. R., Zampini, C., Isla, M. I., López-Rubio, A., & Fabra, M. J. (2020).** Antifungal edible coatings containing Argentinian propolis extract and their application in raspberries. *Food Hydrocolloids*, 107. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105973>
- Moussa, A., Crépet, A., Ladavière, C., & Trombotto, S. (2019).** Reducing-end “clickable” functionalizations of chitosan oligomers for the synthesis of chitosan-based diblock

copolymers. Carbohydrate Polymers, 219(February), 387–394.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.04.078>

N

Nasrollahzadeh, M., Sajjadi, M., Iravani, S., & Varma, R. S. (2021). Starch, cellulose, pectin, gum, alginate, chitin and chitosan derived (nano)materials for sustainable water treatment: A review. Carbohydrate Polymers, 251(September 2020), 116986.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116986>

Ngo, D. H., Vo, T. S., Ngo, D. N., Kang, K. H., Je, J. Y., Pham, H. N. D., Byun, H. G., & Kim, S. K. (2015). Biological effects of chitosan and its derivatives. Food Hydrocolloids, 51, 200–216. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.05.023>

Niculescu, A. (2022). Applications of Chitosan-Alginate-Based Nanoparticles — An Up-to-Date Review.

O

Oroian, M., Dranca, F., & Ursachi, F. (2020). Comparative evaluation of maceration, microwave and ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from propolis. Journal of Food Science and Technology, 57(1), 70–78. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04031-x>

P

Pakizeh, M., Moradi, A., & Ghassemi, T. (2021). Chemical extraction and modification of chitin and chitosan from shrimp shells. European Polymer Journal, 159(May), 110709.
<https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2021.110709>

Pal, K., Bharti, D., Sarkar, P., Anis, A., Kim, D., Chalas, R., Maksymiuk, P., Stachurski, P., & Jarzębski, M. (2021). Selected applications of chitosan composites. International Journal of Molecular Sciences, 22(20). <https://doi.org/10.3390/ijms222010968>

Papp, Z., Bouchelaghem, S., Szekeres, A., Meszéna, R., Gyöngyi, Z., & Papp, G. (2021). The scent of antifungal propolis. Sensors, 21(7). <https://doi.org/10.3390/s21072334>

- Parolia, A., Kumar, H., Ramamurthy, S., Davamani, F., & Pau, A. (2020).** Effectiveness of chitosan-propolis nanoparticle against *Enterococcus faecalis* biofilms in the root canal. *BMC Oral Health*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/s12903-020-01330-0>
- Perez, J. J., & Francois, N. J. (2016).** Chitosan-starch beads prepared by ionotropic gelation as potential matrices for controlled release of fertilizers. *Carbohydrate Polymers*, 148, 134–142. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.04.054>
- Perini, M., Nardin, T., Venturelli, M., Pianezze, S., & Larcher, R. (2020).** Stable isotope ratio analysis as a fast and simple method for identifying the origin of chitosan. *Food Hydrocolloids*, 101(June 2019), 105516. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105516>
- Pini, N. I. P., Lima, D. A. N. L., Luka, B., Ganss, C., & Schlueter, N. (2020).** Viscosity of chitosan impacts the efficacy of F/Sn containing toothpastes against erosive/abrasive wear in enamel. *Journal of Dentistry*, 92(September 2019), 103247. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2019.103247>
- Pokhrel, S., Yadav, P. N., & Adhikari, R. (2016).** Applications of Chitin and Chitosan in Industry and Medical Science: A Review. *Nepal Journal of Science and Technology*, 16(1), 99–104. <https://doi.org/10.3126/njst.v16i1.14363>
- Popova, M., Trusheva, B., & Bankova, V. (2021).** Chemistry and Applications of Propolis (pp. 1–33). https://doi.org/10.1007/978-3-030-76523-1_38-1
- Potier, F., & La, F. P. (2014).** La propolis, propriétés et intérêt thérapeutique. <http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>
- P. Padida, Q., V. Maningas, R., P. dela Cruz, C. P., P. Lapie, L., & S. Alforja, N. (2020).** Crustacean Waste Shells As Adsorption Materials for Heavy Metals in an Aqueous Solution. *Environmental Contaminants Reviews*, 4(2), 33–35. <https://doi.org/10.26480/ecr.02.2021.33.35>
- Przybyłek, I., & Karpiński, T. M. (2019).** Antibacterial properties of propolis. In *Molecules* (Vol. 24, Issue 11). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/molecules24112047>



Rebolledo Ranz R. E. (2021). *Arthropods: Are They Beneficial for Mankind?*. Edition BoD

– Books on Demand. 232 p.

Ripari, N., Sartori, A. A., Honorio, M. D. S., Conte, F. L., Tasca, K. I., Santiago, K. B., & Sforcin, J. M. (2021). Propolis antiviral and immunomodulatory activity: A review and perspectives for COVID-19 treatment. In *Journal of Pharmacy and Pharmacology* (Vol. 73, pp. 281–299). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/JPP/RGAA067>

Rivera-Yañez, N., Rivera-Yañez, C. R., Pozo-Molina, G., Méndez-Catalá, C. F., Reyes-Realí, J., Mendoza-Ramos, M. I., Méndez-Cruz, A. R., & Nieto-Yañez, O. (2021). Effects of propolis on infectious diseases of medical relevance. In *Biology* (Vol. 10, Issue 5). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/biology10050428>

S

Santos, V. P., Marques, N. S. S., Maia, P. C. S. V., de Lima, M. A. B., Franco, L. de O., & de Campos-Takaki, G. M. (2020). Seafood waste as attractive source of chitin and chitosan production and their applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(12), 1–17. <https://doi.org/10.3390/ijms21124290>

Shariatnia, Z. (2019). Pharmaceutical applications of chitosan. *Advances in Colloid and Interface Science*, 263, 131–194. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2018.11.008>

Shin, C. S., Kim, D. Y., & Shin, W. S. (2019). Characterization of chitosan extracted from Mealworm Beetle (*Tenebrio molitor*, *Zophobas morio*) and Rhinoceros Beetle (*Allomyrina dichotoma*) and their antibacterial activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 125, 72–77. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.242>

Shivakumar, P., Gupta, M. S., Jayakumar, R., & Gowda, D. V. (2021). Prospection of chitosan and its derivatives in wound healing: Proof of patent analysis (2010–2020). *International Journal of Biological Macromolecules*, 184(April), 701–712. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.06.086>

Singh, R., Shitiz, K., & Singh, A. (2017). Chitin and chitosan: biopolymers for wound management. *International Wound Journal*, 14(6), 1276–1289. <https://doi.org/10.1111/iwj.12797>

Siripatrawan, U., & Vitchayakitti, W. (2016). Food Hydrocolloids Improving functional

properties of chitosan films as active food packaging by incorporating with propolis. *Food Hydrocolloids*, 61, 695–702. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.06.001>

Šuran, J., Capanec, I., Mašek, T., Starčević, K., Gajger, I. T., Vranješ, M., Radić, B., Radić, S., Kosalec, I., & Vlainić, J. (2021). Nonaqueous polyethylene glycol as a safer alternative to ethanolic propolis extracts with comparable antioxidant and antimicrobial activity. *Antioxidants*, 10(6). <https://doi.org/10.3390/antiox10060978>

Suyotha, W., Cheirsilp, B., Yano, S., Matsuba, S., & Konno, H. (2021). Production of Chitosanase by *Lentzea* sp. OUR-II Using Acid-Pretreated Shrimp Shell in an Air-Lift Bioreactor and the Feasibility of Utilizing the Residual Biomass. *Waste and Biomass Valorization*, 12(5), 2445–2458. <https://doi.org/10.1007/s12649-020-01191-2>

T

Tian, B., & Liu, Y. (2020). Chitosan-based biomaterials: From discovery to food application. *Polymers for Advanced Technologies*, 31(11), 2408–2421. <https://doi.org/10.1002/pat.5010>

Torlak, E., & Sert, D. (2013). Antibacterial effectiveness of chitosan-propolis coated polypropylene films against foodborne pathogens. *International Journal of Biological Macromolecules*, 60, 52–55. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.05.013>

Trung, T. S., Tram, L. H., Van Tan, N., Van Hoa, N., Minh, N. C., Loc, P. T., & Stevens, W. F. (2020). Improved method for production of chitin and chitosan from shrimp shells. *Carbohydrate Research*, 489(January), 107913. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2020.107913>

U

Üçok, G., & Sert, D. (2020). Growth kinetics and biomass characteristics of *Lactobacillus plantarum* L14 isolated from sourdough: Effect of fermentation time on dough machinability. *Lwt*, 129(April). <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109516>

W

Waisundara V. et Shiomi N. (2017). Superfood and Functional Food: An Overview of Their

Processing and Utilization. Edition BoD – Books on Demand. 356 p.

Wei, L., Tan, W., Wang, G., Li, Q., Dong, F., & Guo, Z. (2019). The antioxidant and antifungal activity of chitosan derivatives bearing Schiff bases and quaternary ammonium salts. *Carbohydrate Polymers*, 226(June), 115256. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115256>

Υ

Yanat, M., & Schroën, K. (2021). Preparation methods and applications of chitosan nanoparticles; with an outlook toward reinforcement of biodegradable packaging. *Reactive and Functional Polymers*, 161(February). <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2021.104849>

Youcefi, F., & Riazi, A. (2015). Research article extraction, Physicochemical characterization, Study of heavy metal Mn^{2+} adsorption and in vitro antibacterial activity of chitosan in shrimp shell waste from BENI SAF sea, ALGERIA against Methicillin *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Current Research*, Vol. 7, Issue, 01, pp.11240-11244. <http://www.journalcra.com>

Z

Zaimen, F., Ghodbani, T., & Vermeren, H. (2021). « L'activité de pêche artisanale au sud de la Méditerranée : gouvernance, dynamique socio-économique et enjeux environnementaux dans le port algérien de Jijel (Boudis) ». *VertigO - la revue électronique en sciences de l'environnement*, Volume 21, numéro 1, mai 2021, [mis en ligne le 17 mai 2021] <http://journals.openedition.org/vertigo/31198> ; <https://doi.org/10.4000/vertigo.31198> (24 avril 2022 à 00:58).

Zhang, H., & Yang, F. Q. (2021). Equipment-free quantitative determination of urea based on paper-based sensor via urease-mediated chitosan viscosity change. *Enzyme and Microbial Technology*, 148(February), 109830. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2021.109830>

Zulhendri, F., Chandrasekaran, K., Kowacz, M., Ravalía, M., Kripal, K., Fearnley, J., & Perera, C. O. (2021). Antiviral, antibacterial, antifungal, and antiparasitic properties of

propolis: A review. In *Foods* (Vol. 10, Issue 6). MDPI AG.
<https://doi.org/10.3390/foods10061360>

Zulhendri, F., Felitti, R., Fearnley, J., & Ravalia, M. (2021). The use of propolis in dentistry, oral health, and medicine: A review. In *Journal of Oral Biosciences* (Vol. 63, Issue 1, pp. 23–34). Japanese Association for Oral Biology.
<https://doi.org/10.1016/j.job.2021.01.001>

ملخص :

الهدف من هذا العمل هو إعداد بروتوكول تجريبي لاستخراج الشيتوزان و العكبر وإثبات قوتها المضادة للبكتيريا بالإضافة إلى قوة التركيبية (شيتوزان / عكبر). أظهرت النتائج أن المستخلصات المختلفة من الشيتوزان E₁ و E₂ و E₃ تم نزع المعادن منها بشكل صحيح مع معدل رماد إجمالي أقل بكثير من 1٪، مشيراً إلى أن E₃ قد تم نزع المعادن منه تماماً وأن ذوبانه كان ملحوظاً عند 1٪ في حمض الخليك تركيزه 1.5٪. كان مردود الكيتين والشيتوزان لهذه المستخلصات في حدود 34 ٪ ، 19.35 ٪ ، 22.78 ٪ و 20.13 ٪ و 38.24 ٪ ، 75.20 ٪ ، 93.76 ٪ و 97.24 ٪ على التوالي، بينما قدر مردود المستخلص الإيثانولي للعكبر بـ 17.85 ٪. كشفت التجارب أن E₂ و E₃ النقيين يظهران نشاطاً مضاداً للبكتيريا بأقطار تثبيط تصل إلى 11.52 ± 1.36 مم و 12.84 ± 1.63 مم للمكورات العنقودية الذهبية و 11.97 ± 0.16 مم و 15.77 ± 0.79 مم للإشريكية القولونية على التوالي مع MICs 0.5٪ و 2٪ للمكورات العنقودية الذهبية و للإشريكية القولونية على التوالي بليغة للمستخلص E₃. العكبر قدم قوة مضادة للجراثيم لبكتيريا المكورة العنقودية الذهبية بأقطار تثبيط 14.95 ± 0.45 مم ، 14.58 ± 0.95 مم ، 13.96 ± 0.83 مم ، 13.82 ± 1.12 مم و 11.12 ± 0.81 مم للتراكيز (6٪ ، 8٪ ، 10٪ ، 12٪ و 40٪ من العكبر). تم الكشف عن التأثير المشترك (Pro + Ch. E₂) لبكتيريا المكورات العنقودية الذهبية بأقطار هالة تثبيط ضئيلة تتراوح من 2.41 ± 0.09 مم إلى 6.18 ± 0.58 مم مع MICs بنسبة 25٪ / 75٪ (شيتوزان / دنج) لكل من البكتيريا المسببة للأمراض العنقودية الذهبية والإشريكية القولونية.

الكلمات المفتاحية : إعادة التدوير، الاقتصاد الدائري، التنمية المستدامة، الإستخلاص، الشيتوزان، العكبر، التعاضد، التأثير المضاد للبكتيريا.

Résumé :

L'objectif de ce travail est de mettre en place un procédé d'extraction de chitosane et de propolis et de démontrer leurs pouvoirs antibactériens ainsi que celui du combiné (chitosane / propolis). Les résultats ont montrés que les différents extraits de chitosane E₁, E₂ et E₃ ont correctement été déminéralisés avec un taux de cendres totales largement inférieure à 1% marquant qu'E₃ l'a été totalement et sa solubilisation était remarquable à 1% dans de l'acide acétique à 1,5%. Les rendements de chitine et de chitosane de ces extraits ont été de l'ordre de 34%, 19,35%, 22,78% et 20,13% et de 38,24%, 75,20%, 93,76% et 97,24% respectivement et celui de l'extrait éthanolique de la propolis été estimé à 17,85%. Les expérimentations révèlent qu'E₂ et E₃ purs, présentent une activité antibactérienne avec des diamètres d'inhibition de l'ordre de 11,52 ± 1,36 mm et 12,84 ± 1,63 mm pour *S. aureus* et de 11,97 ± 0,16 mm et 15,77 ± 0,79 mm pour *E. coli* respectivement avec des CMI de 0,5% et 2% pour *S. aureus* et *E. coli* significatives à E₃. La propolis a présenté un pouvoir antibactérien pour *S. aureus* avec des diamètres d'inhibition de 14,95 ± 0,45 mm, 14,58 ± 0,95 mm, 13,96 ± 0,83 mm, 13,82 ± 1,12 mm et 11,12 ± 0,81 pour les concentrations (6%, 8%, 10%, 12% et 40% de propolis). L'effet combiné (Ch. E₂ + Pro) a relevé pour *S. aureus* des diamètres d'halos d'inhibition négligeables allant de 2,41 ± 0,09 mm à 6,18 ± 0,58 mm avec des CMI de 25 % / 75 % (chitosane / propolis) pour les deux pathogènes *S. aureus* et *E. coli*.

Mots clés : recyclage, économie circulaire, développement durable, extraction, chitosane, propolis, synergie, effet antibactérien.

Abstract :

The objective of this work is to set up an extraction process of chitosan and propolis and to demonstrate their antibacterial powers as well as that of the combined (chitosan / propolis). The results showed that the different extracts of chitosan E₁, E₂ and E₃ were correctly demineralized with a total ash rate largely lower than 1% marking that E₃ was totally demineralized and its solubilization was remarkable at 1% in acetic acid at 1.5%. The chitin and chitosan yields of these extracts were in the order of 34%, 19.35%, 22.78% and 20.13% and 38.24%, 75.20%, 93.76% and 97.24% respectively and that of the ethanolic extract of propolis was estimated at 17.85%. The experiments reveal that pure E₂ and E₃, present an antibacterial activity with inhibition diameters of about 11.52 ± 1.36 mm and 12.84 ± 1.63 mm for *S. aureus* and 11.97 ± 0.16 mm and 15.77 ± 0.79 mm for *E. coli* respectively with MICs of 0.5% and 2% for *S. aureus* and *E. coli* significant at E₃. Propolis exhibited antibacterial potency for *S. aureus* with inhibition diameters of 14.95 ± 0.45 mm, 14.58 ± 0.95 mm, 13.96 ± 0.83 mm, 13.82 ± 1.12 mm, and 11.12 ± 0.81 for concentrations (6%, 8%, 10%, 12% and 40% propolis). The combined effect (Ch. E₂ + Pro) showed negligible inhibition halo diameters for *S. aureus* ranging from 2.41 ± 0.09 mm to 6.18 ± 0.58 mm with MICs of 25% / 75% (chitosan / propolis) for both *S. aureus* and *E. coli* pathogens.

Keywords : recycling, circular economy, sustainable development, extraction, chitosan, propolis, synergy, antibacterial effect.