République Algérienne Démocratique et Populaire و زارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique جامعة أبو بكر بلقايد للمسان

Université ABOUBEKR BELKAID - TLEMCEN كلية علوم الطبيعة و الحياة ,و علوم الأرض و الكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de l'Univers

Département d'Ecologie et Environnement



MÉMOIRE

Présenté par

FRITEL MOHAMMED

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

START-UP

En Hydrobiologie Marine et Continentale Option : Sciences de la mer

Thème

Extraction de chitine et du chitosane à partir des déchets marins (crustacés décapodes)

Soutenu le Juillet 2023, devant le jury composé de :

Président ZETTAM AMINE M.C. A Université de Tlemcen Encadrante YOUCEFI FATMA M.C.A Université de Tlemcen Examinatrice BENGUEDDA- RAHAL M.C.A Université de Tlemcen

WACILA

Invitée OUAHAB LINDA WIDAD Doctorante Université de Tlemcen

Année universitaire 2022/2023

Remerciement

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude Madame YOUCEFI Fatma, Maitre de conférence à l'Université Abou Bakr Belkaïd de Tlemcen, pour votre encadrement tout au long de mon Projet de Fin d'Études. Votre soutien inestimable et votre engagement ont été déterminants pour la réalisation de ce travail. Vous avez été bien plus qu'une encadrante pour moi. Vous avez créé un environnement propice au travail et mis à ma disposition tous les moyens nécessaires à mes expérimentations. Votre expertise, votre disponibilité et votre bienveillance ont été des atouts précieux qui m'ont permis d'avancer sereinement dans mon projet.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance envers Monsieur AGGAB Choaib, enseignant à l'université de Tlemcen, dont l'aide et le soutien ont été essentiels pour la réalisation de ce travail.

Je suis conscient(e) du temps et de l'énergie que vous avez consacrés à mon projet, et je tenais à vous témoigner toute ma reconnaissance pour votre investissement personnel.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers Monsieur BENDIMRAD Amin, Maître de Conférence « A » à l'Université Abou Bakr Belkaïd de Tlemcen qui a accepté avec bienveillance de présider le jury évaluant mon Projet de Fin d'Études. Sa participation a été un honneur et sa précieuse expertise a grandement enrichi cette étape cruciale de mon parcours académique.

Également, je souhaite adresser mes sincères remerciements à Madame BENGUEDDA Wacila, Maître de Conférence à l'Université Abou Bakr Belkaïd de Tlemcen, pour avoir accepté de faire partie de ce jury. Sa présence et son évaluation ont été d'une valeur inestimable, et je lui suis profondément reconnaissant

Je tiens également à vous remercier chaleureusement, Melle Ouhab Linda, ma coencadrante, pour sa contribution et son soutien indéfectible. Ses conseils éclairés et son partage généreux de connaissances et d'expérience ont enrichi mon parcours et ont contribué à la réussite de mon travail.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance envers tout l'équipage du navire MOULAY 1 pour leur accompagnement lors des sorties.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance et mes sincères remerciements à Monsieur Amine LOUKILI et Monsieur Boumediene SALHI, ingénieurs émérites des Laboratoires de Biologie Moléculaire au sein du Département de Biologie

Je tiens à exprimer ma sincère gratitude envers Madame MALEK Fadela, Maître de Conférence « A », pour son soutien moral précieux et son partage généreux de connaissances et d'expérience. Sa présence et son engagement ont été une source d'inspiration tout au long de mon projet.

Je souhaite également remercier chaleureusement les doctorants BOUAITA Rayane, KHERBACHE Atika, BARKA Houda et MIBARKI Hamza pour leur contribution considérable à ce travail. Leur implication et leur apport ont été d'une valeur inestimable, et je leur suis profondément reconnaissant pour leur participation active. Enfin, je tiens à exprimer ma gratitude envers les médecins SAIDI Naïma, Radia et BENMOSTEFA Amina pour leur collaboration. Leur expertise et leur disponibilité ont été d'une grande aide dans la réalisation de ce travail.



Je dédie ce travail

À l'âme de mon père bien-aimé, tu restes à jamais dans mon cœur. Repose en paix, cher papa.

À ma maman, ma source de soutien inconditionnel, ma confidente et mon inspiration. Tu m'as montré la force du dévouement et de l'amour inébranlable. Je te suis profondément reconnaissant(e) pour tout ce que tu as fait pour moi.

À ma sœur et mon frère, Abdelghani, vous avez été mes compagnons de route, me poussant toujours à me dépasser. Votre présence à mes côtés m'a donné la force de persévérer et de croire en mes capacités.

À mes chers amis, ma famille et mes camarades de promotion et du laboratoire, vous avez été une source de soutien précieuse tout au long de ce parcours. Vos encouragements, vos discussions et votre camaraderie ont rendu cette expérience encore plus enrichissante.

Je dédie ce travail à toutes ces personnes qui ont fait partie de mon voyage et qui ont contribué à ma réussite. Leur présence et leur soutien ont été d'une valeur inestimable, et je leur suis reconnaissant du fond du cœur.

Mohammed

LISTE DES ABREVIATIONS

%: pourcentage.

°C: degré.

ADN : acide désoxyribonucléique.

ARN: Acides Ribonucléiques.

BHI: Brain Heart Infusion.

BHIB: Brain heart Infusion broth.

CMI: Concentration minimale inhibitrice.

CMB : Concentration Bactéricide Minimale.

CH4 : le méthane.

CHU: Centre hospitalisé universitaire.

CMI: Concentration Minimale Inhibitrice.

CO2: gaz dioxyde de carbone.

CS: chitine-synthases.

DBO5/DCO : Demande Biochimique en Oxygène pendant 5 jours /Demande chimique en oxygène.

DA: Degré d'acétylation.

DD : Degré de Désacétylation.

DL50: dose létale 50.

DL50: la dose létale médiane.

DMSO: diméthylsulfoxyde.

E. coli: Escherichia coli.

EDTA: éthylène diamine tétra-acétique.

ERI : les eaux résiduaires industrielles.

EPSP:

G: gramme.

GES: Gaz à effet de serre

H: heure. **H2O**: L'eau.

HCl: acide chlorhydrique.

IR: La spectrométrie infrarouge

Mg/kg: milligramme par kilogramme

MHA: Muller Hinton Agar.

MIN: minute.
Mm: millimètre.

MW: Le poids moléculaire. **NaCl**: Le chlorure de sodium

NaOH: hydroxyde de sodium ou de potassium.

NFS: Numérisation formule sanguine

PH: potentiel d'hydrogène.

P/V: poids par volume

O3: l'ozone.

OMS: L'Organisation mondiale de la Santé. **RMN**: La résonance magnétique nucléaire.

S. aureus : Staphylococcus aureus.

SARL: Une société à responsabilité limitée

UFC: unité formant colonie.

V/V: volume / volume.

VVUS La spectrophotométrie ultraviolette visible.

μm: micromètre.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Pourcentage de chitine dans les êtres vivants marins (AILI,2020).	15
Tableau 2 : applications du chitosane dans le domaine de l'environnement (ALJAWISH, 201	1 3). 24
Tableau 3: applications du chitosane dans le domaine agricole (CRINI, 2006, 2000)	25
Tableau 4: applications du chitosane dans le domaine agroalimentaire (ALJAWISH, 2013).	26
Tableau 5 : applications du chitosane dans le domaine de la cosmétique (CRINI, 2006)	26
Tableau 6 : Milieu de culture, température de croissance et temps d'incubation des souches ut	tilisées.
	28
Tableau 7 : la technique de déshydratation des micro biopsies Erreur ! Signet no Tableau 8 : Rendements des différentes étapes d'extraction et de transformation de la chitine	en
chitosane	45
Tableau 9 : l'effet du chitosane sur la prolifération pour les deux souches.	51
Tableau 10: l'effet bactéricide du chitosane sur les deux souches E. coli et S. aureus	52
Tableau 11 : Détermination de DL50 de chitosane Erreur ! Signet no	n défini.
Tableau 12 : L'état tissulaire des organes (foie, rein et intestin) chez les rats traités par le test du chitosane	n défini.
Tableau 13 : L'état tissulaire des organes (foie, rein et intestin) chez les rats témoins Erreun non défini.	r!Signet
Tableau 14 : L'état tissulaire des organes (foie, rein et intestin) chez les rats infectés par S. au Erreur ! Signet no	
Tableau 15 : L'état tissulaire des organes (foie, rein et intestin) chez les rats traités par le chite	
Tableau 16 : L'état tissulaire des organes (foie, rein et intestin) chez les rats témoins Erreun non défini.	r!Signet

LISTE DE FIGURES

Figure 1: Schéma des différents types de pollutions maritimes.	4
Figure 2: Classification des eaux usées domestiques par source d'émission (BOUTIN, 2016)	6
Figure 3: Cycle des éléments nutritifs, lors d'apports en excès (GALVEZ-CLOUTIER, 2002).	
Figure 4: schéma d'action et pilier de l'économie circulaire (institut national de l'économie	
circulaire).	11
Figure 5: Structure chimique de la chitine et du chitosane (BEREZINA ET HUBERT, 2020)	14
Figure 6: Schéma général de la biosynthèse de la chitine dans les systèmes biologiques (SANTO	OS ET
AL., 2020).	
Figure 7: Morphologie externe d'une crevette Pénéide (GOARANT, 2000)	17
Figure 8: Production de chitine et de chitosan par des traitements chimiques et biologiques (SAI)	NTOS
ET AL,2020)	18
Figure 9: production et demande mondiale de chitine(www.sflyproteins.fr)	19
Figure 10: Mécanisme proposé de l'activité antifongique du chitosane (KULAWIK ET AL, 202	20).22
Figure 11: L'évolution des domaines d'application pour lesquels le chitosane est employé (LE	
ROUX,2012).	23
Figure 12: Navire MOULAY 1 (Original 2023)	27
Figure 13: Marsupenaeus japonicus Figure 14: Palaemon serratus	28
Figure 15: Lot de rats witar (original 2023). Figure 16: photo d'un rat wistar (original 2023).	
Figure 17: les etapes de prétraitements des carapaces de crevettes (originals, 2023)	31
Figure 18: les etapes Production de chitine puis transformation en chitosane	33
Figure 19: la chitine et le chitosane (original,2023)	45
Figure 20: chitosane soluble à 1% et 2% (original, 2023).	46
Figure 21: l'etat des fruits après 8 jours (originals, 2023)	
Figure 22: l'état des tomates pendant 25 jour (originales, 2023)	
Figure 23 : photo de film formé à base de chitosane (originale, 2023)	
Figure 24 : photo illustrant la présence des zones de proliférations de l'effet de chitosane sur les	
souches (originales, 2023).	50

Table des matières

Indtro	duction	1
Chapitr	e l'incidence des déchets sur l'envirennement	3
1 Le	s déchets	3
1.1	Définition des déchets :	3
1.2	Définition des déchets organiques	3
1.3	Les déchets organiques des activités de pêché :	3
2-La po	llution marine:	3
2-1-T	ype de pollution marine :	4
2-	1-1-Pollution physique :	4
2-	1-2-Pollution chimique :	4
2-	1-3-Pollution biologique :	5
3-Cla	ssification de pollution marine selon son origine :	5
3-	1- Pollution domestique	5
3-2	2-Pollution agricole	6
2-3	3-Pollution industrielle	6
4-Mc	ode de pollution	7
4-	1-Pollution diffuse	7
4-2	2-Pollution ponctuelle	7
5-L'inci	dence des déchets organiques sur l'environnement	7
5-1-E	ffet de serre	7
5-2	2-Impact d'effet de serre sur l'écosystème marin	7
5-3	3-Relation déchets & effet de serre	8
5-4-E	utrophisation	8
5-3	5-Impact de l'eutrophisation sur l'écosystème aquatique	8
5-0	6-Relation déchets organiques & eutrophisation	9
6 Ge	estion des déchets organiques	9
7-L'éco	nomie circulaire	10
7-2-F	Piliers de l'économie circulaire	10
7-3-0	Dbjectifs de l'économie circulaire	11
7-3-\	/alorisation et recyclage des sous-produits de la pêche	11
7-4	4-1-Example des voies de valorisation des co-produits d'origine marine	12
	7-4-1-1-Farine et huile de poisson	
	7-4-1-2-Collagène et gélatines de poisson	12
	7-4-1-3-Chitine et chitosane	
Chpaitr	'e II Le chitosane	13
1 10	s higholymers	13

	1.1	Génér	ralités	13
	1.2	Défini	ition d'un biopolymère	13
	1.2	2.1 L	La chitine	13
	1.2	2.2 L	_e chitosane	13
	-	1.2.2.1	Structure de chitine et de chitosane	14
	-	1.2.2.2	Source du chitosane	14
	1	1.2.2.3	La biosynthèse de la chitine	15
2	Gé	néralités	s sur les crustacés	16
	2.1	Morpl	hologie générale des crevettes	16
3	Pro	ocède d'	extraction de chitine et du chitosane	17
	3.1	Procé	dé chimique :	17
	3.2	Procé	dé biologique	17
4	Pro	oduction	n mondiale du chitosane	18
5	Les	s caracté	éristiques physicochimiques de chitine et du chitosane	19
	5.1	Solubi	ilité du chitosane	19
	5.2	Poids	moléculaire du chitosane	19
	5.3	Le de	gré de Désacétylation (DD)	20
	5.4	La viso	cosité	20
	5.5	Crista	llinité	21
6	Les	s caracté	éristiques biologiques du chitosane	21
	6.1	La bio	dégradabilité	21
	6.2	La bio	compatibilité	21
	6.3	L'activ	vité antimicrobien	21
	6.4	L'activ	vité antifongique	22
	6.5	Effet a	antioxydant	23
7	Do	maines	d'applications	23
	7.1	Doma	ine pharmaceutique et médical	23
	7.2	Traite	ment des eaux	24
	7.3	Agricu	ulture	25
	7.4	Agroa	llimentaire	25
	7.5	Cosme	étique	26
N	latérie	el et mét	thodes	26
1	Ech	hantillon	nnage	27
	1.1		ortie en mer	
	1.2		riel biologique utilisé pour l'extraction	
	1.3		nes bactériennes utilisées	
	1.4		ilieux de cultures utilisés	
	1.5		riel animal	

	1.6	Conditions d'adaptation des rats	29		
2	Mét	hodes:	29		
	2.1	Prétraitement des carapaces de crevettes	29		
	2.2	L'extraction de chitine / chitosane	32		
	2.3 Rendement:				
	2.4	Solubilisation du chitosane	34		
	2.5	L'Enrobage	34		
	2.6	Fabrication de bioplastique	34		
3	Test	e in-vitro	34		
	3.1	Revivification des souches	34		
	3.2	Purification des souches	34		
	3.3	Conservation des souches	35		
	3.4	Activité antimicrobienne	35		
	3.4.	Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	35		
	3.4.	Détermination des concentrations minimales bactéricides (CMB)	36		
R	ésultat	s et discussion	45		
1	Ren	dement massique de chitine et de chitosane	45		
2	Solu	bilité du chitosane	45		
3	L'en	robage	46		
3.1 L'enrobage de la fraise					
	3.2	5.2 Enorobage de tomate			
4	Fabi	rication de bioplastique	49		
5	In-v	itro	50		
5.1 Pouvoir antibactérien du chitosane		Pouvoir antibactérien du chitosane	50		
5.2		Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	51		
	5.3	Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)	52		
R	éféren	ces bibliographiques			

الملخص

الهدف من العمل هو تثمين المنتجات المشتركة للنفايات العضوية (القشريات عشارية الارجل) المستمدة من انشطة الصيد. يتم تحقيق ذلك باستخدام عملية كيميائية لاستخراج الشيتوزان من هذه النفايات ، لذلك نوضح خصائصه المضادة للبكتيريا في المختبر وفي الجسم الحي. تتضمن الدراسة تقييم سمية الشيتوزان على فئران ويستار من خلال أخذ أقسام نسيجية من الكبد والكلي والأمعاء ومعايرة الدم. في الوقت نفسه ، أجرينا أيضًا تجارب تهدف إلى إنتاج غشاء حيوي وتغليف الفاكهة والخضروات بالشيتوزان. تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا باستخدام طريقة التلامس المباشر مع الوسط الجيلوزي ، وأظهرت النتائج عدم انتشار سلالات المكورات العنقوبية الذهبية والإشريكية القولونية على التوالي تم العثور على نفس التركيز الادنى القاتل للبكتيريا ، تظهر النتائج قدرة الشيتوزان في إطالة العمر الافتراضي للطماطم و الفراولة وقدرته على تشكيل أغشية ناعمة وجذابة. أجريت الدراسة في الجسم الحي على النشاط المضاد للبكتيريا على 3 مجموعات من 5 فئران ومجموعة الشواهد ومجموعة مصابة بالشيتوزان على 5 أناث من فئران ومجموعة الشواهد ومجموعة مصابة تحسن في تحاليل الدم. أجريت دراسة سمية الشيتوزان على 5 إناث من فئران ويستار ، والتي أعطيت جرعات تدريجية بواسطة التزقيم من 500 ، 1000 ، 1000 ، 1000 ملغم / كغم / يوم لمدة 4 أسابيع على التوالي. لا توجد فروق معنوية في السلوك أو المظهر الخارجي ووزن الجسم واستهلاك الغذاء بين الجرذان الشواهد والفئران المعالجة، مع عدم وجود فروق معنوية في معاملات الدم والنسيج

الكلمات المفتاحية: الشيتوزان ، النفايات ، مضاد بكتيري ، التلوث والسمية

Abstract

The aim of the work is to exploit the co-products of organic waste (decapod crustaceans) from fishing activities. This is achieved by using a chemical process to extract chitosan from this waste, demonstrating its antibacterial properties both in vitro and in vivo. The study involves assessing the toxicity of chitosan on Wistar rats by taking histological sections of the liver, kidney and intestine and analyzing hematological parameters. At the same time, we also carried out trials aimed at producing a biofilm and coating fruit and vegetables with chitosan. Antibacterial activity was assessed using the direct contact method with an agar medium, and the results showed an absence of proliferation of Staphylococcus aureus and Escherichia coli strains, with a minimum inhibitory concentration (MIC) of 0.2 and 0.4% for Staphylococcus aureus and Escherichia coli respectively. The same concentrations were found for MBC. The results show the power of chitosan to extend the shelf life of tomatoes and strawberries, and its ability to form smooth, attractive films. The in vivo study on antibacterial activity was carried out on 3 batches of 5 rats, a control batch, a batch infected with staphylococcus aureus and a batch infected and treated with chitosan. The enumeration results showed a reduction in the bacterial load, with an improvement in hematological parameters. The chitosan toxicity study was carried out on 5 female Wistar rats, which were given progressive doses of 500, 1000, 1500 and 2000 mg/kg/day by gavage for 4 weeks respectively. There were no significant differences in behavior or external appearance, body weight and food consumption between control and treated rats, with no significant differences in hematological and histopathological parameters.

Key words: Chitosan, Waste, antibacterial effect, Pollution and Toxicity.

Résumé

L'objectif du travail est de valoriser les coproduits des déchets organiques (crustacés décapodes) provenant de l'activité de pêche. Cela est réalisé en utilisant un procédé chimique pour extraire le chitosane de ces déchets, en démontrant ses propriétés antibactériennes à la fois in vitro et in vivo. L'étude comporte, l'évaluation de la toxicité du chitosane sur des rats Wistar en réalisant des coupes histologiques sur le foie, rein et intestin et en analysant des paramètres hématologiques. En parallèle, nous avons également effectué des essais visant à fabriquer un biofilm et à enrober des fruits et des légumes par le chitosane. L'activité antibactérienne a été évaluée en utilisant la méthode de contact direct avec un milieu gélosé, les résultats ont montré une absence de prolifération des souches de Staphylococcus aureus et Escherichia coli, avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 0,2 et 0,4% pour Staphylococcus aureus et Escherichia coli respectivement, Les mêmes concentrations ont été trouvés pour la CMB. Les résultats montrent le pouvoir du chitosane à prolonger la durée de vie des tomates et des fraises, et sa capacité de former des films lisse et de belle apparence. L'étude in vivo sur l'activité antibactérienne a porté sur 3 lots des 5 rats, un lot témoin, un lot infecté par staphylococcus aureus et un lot infecté et traité par le chitosane, les résultats du dénombrement montrent une diminution de la charge bactérienne, avec une amélioration dans les paramètres hématologiques il a été constaté que le chitosane favorise la récupération des tissus et réduction des inflammations. L'étude to toxicité du chitosane a été réalisée sur 5 rats Wistar de sexe féminin, qui ont reçu par gavage des doses progressives 500, 1000,1500, 2000 mg/kg/par jour pendant 4 semaines respectivement. Il n'y a pas eu de différences significatives dans le comportement ou l'apparence extérieure, le poids corporel et la consommation de nourriture entre les rats témoins et les rats traités, avec aucune différence significative dans les paramètres hématologiques et histopathologiques.

Mots clés: Chitosane, Les déchets organiques, pouvoir antibactérien, Pollution et Toxicité.

Introduction



Introduction:

La préservation et l'utilisation durable des ressources marines sont des enjeux cruciaux pour le développement socioéconomique. Au cours des dernières décennies, la pollution des océans est devenue un problème de plus en plus préoccupant à l'échelle mondiale (**DERRADJI ET AL., 2007**). Les activités de pêche et de transformation des produits marins ont directement contribué à cette pollution en générant des déchets et des co-produits. Cette situation présente des défis importants sur les plans environnemental et économique, compte tenu de l'épuisement actuel des ressources marines disponibles.

Les produits marins offrent une vaste gamme de bio-polymères, parmi lesquels se trouvent des polysaccharides tels que l'alginate de sodium et le chitosane. Ces bio-polymères présentent des propriétés physico-chimiques et biologiques remarquables, en faisant une alternative prometteuse aux polymères dérivés de la pétrochimie. Leurs propriétés spécifiques trouvent des applications diversifiées dans des domaines tels que l'agriculture, la pharmacie et la biomédecine (BELGACEM ET GANDINI, 2011).

En effet, plusieurs approches ont été mises en évidence pour récupérer et valoriser les biomasses rejetées, notamment dans le cas des co-produits des crustacés. La valorisation des co-produits de crustacés consiste à utiliser ces résidus, tels que les carapaces, les têtes et les coquilles, afin d'en extraire des composés précieux et d'en tirer des bénéfices économiques.

Le chitosane est un polymère naturel dérivé de la chitine, qui est un composant structurel présent dans les exosquelettes de crustacés tels que les crevettes et les crabes. Le chitosane possède des propriétés intéressantes qui en font un matériau polyvalent et prometteur dans de nombreux domaines. En raison de sa biocompatibilité et de sa biodégradabilité, le chitosane est largement utilisé dans l'industrie biomédicale, notamment dans la formulation de médicaments, la régénération tissulaire et la livraison ciblée de médicaments (MOURYA ET INAMDAR, 2008). En outre, le chitosane présente également des propriétés antimicrobiennes, ce qui en fait un candidat potentiel pour la préparation de revêtements antimicrobiens et de pansements. Des études ont montré que le chitosane peut stimuler le système immunitaire, favoriser la cicatrisation des plaies et réduire l'inflammation. De plus, ses propriétés de bioadhésivité lui permettent d'être utilisé comme agent d'encapsulation, améliorant ainsi la stabilité et la libération contrôlée de différents composés bioactifs. En conclusion, le chitosane présente un éventail d'applications potentielles dans les domaines biomédical, pharmaceutique et environnemental en raison de ses propriétés uniques (Dash et al, 2011).

Notre travail se concentre sur la mise en valeur des propriétés biologiques du chitosane, notamment son activité antibactérienne in vitro et in vivo, ainsi que sa toxicité lors de nos expérimentations.

La première partie de cette étude examine les données bibliographiques sur l'impact des déchets organiques sur l'environnement, abordées dans le premier chapitre. Le deuxième chapitre présente le chitosane et décrit ses propriétés d'utilisation.

La deuxième partie présente l'étude expérimentale et expose les méthodes appliquées tout au long de notre mémoire, y compris l'extraction du chitosane et son activité antibactérienne in-vitro et in-vivo et sa toxicité ; ainsi que l'étude de l'effet d'enrobage du chitosane sur quelques fruits et légumes.

La troisième partie présente et discute les résultats obtenus à partir du travail réalisé.

Chapitre I: Incidence des déchets organiques sur l'environnement



1 Les déchets

1.1 Définition des déchets :

Étymologiquement, déchet vient de déchoir, du latin cadere (tomber). La racine « dis » traduit l'éloignement et la séparation ; c'est bien là l'esprit qui entoure tous les objets qui sont considérés comme des déchets (TURLAN, 2015).

Les déchets sont tous les résidus d'un processus de production, de transformation ou de consommation, dont le propriétaire ou le détenteur a l'obligation de se défaire ou de l'éliminer (**DJEMACI**, 2012).

Le terme « déchets » est assimilé à la notion de saleté. Elle le définit comme étant « le sousproduit d'une organisation et d'une classification de la matière ; toute mise en ordre entraine le rejet d'éléments non appropriés » (FAID, 2021).

1.2 Définition des déchets organiques

Les déchets organiques, également connus sous le nom de déchets biodégradables, sont des matières d'origine végétale ou animale qui se décomposent naturellement. Ils comprennent les restes de nourriture, les résidus de jardinage, les déchets agricoles et les matières fécales animales (MUTHU, 2012). Sont composés généralement de matières organiques non synthétique, caractérisée par la présence d'atomes de carbone issus d'organismes vivants (CHAUVIN, 2004).

1.3 Les déchets organiques des activités de pêché :

Lors de la capture et du traitement des poissons, des déchets organiques tels que les espèces péchées accessoirement et les individus non calibrés ainsi que les viscères, les peaux, les écailles et les parties non comestibles des poissons sont souvent générés. Ces déchets organiques peuvent être rejetés en mer, ce qui peut entraîner des conséquences négatives pour les écosystèmes marins (**TROELL ET AL, 2003**).

2-La pollution marine:

L'environnement marin est exposé aux impacts combinés d'un cocktail de produits chimiques toxiques et de déchets entrant dans nos cours d'eau et nos océans tous les jours, ainsi que 80% de pollution d'origine terrestre (GOEURY, 2014).

La pollution marine est définie comme une introduction, directe ou indirecte, par l'homme, de substances ou d'énergie dans un milieu marin, lorsqu'elle a des effets nuisibles tels que dommages aux ressources biologiques, risques pour la santé de l'homme, entrave aux activités maritimes, y compris la pêche, altération de la qualité de l'eau de mer du point de vue de son utilisation et dégradation des valeurs d'agrément (GREGOIRE, 2007).

Bien que la pollution marine soit considérée comme étant un problème mondial, le risque peut être plus grand dans certaines régions plutôt que d'autres. L'une de ces régions est la Mer « Méditerranée », car cette mer, est une mer pratiquement fermée ou semi-fermée dont le rythme de renouvellement de ses eaux est de l'ordre de 80 ans (KRACHAI, HADJEL, 2016).

2-1-Type de pollution marine :

A partir de la nature prédominante de la pollution, on distingue trois types principaux :

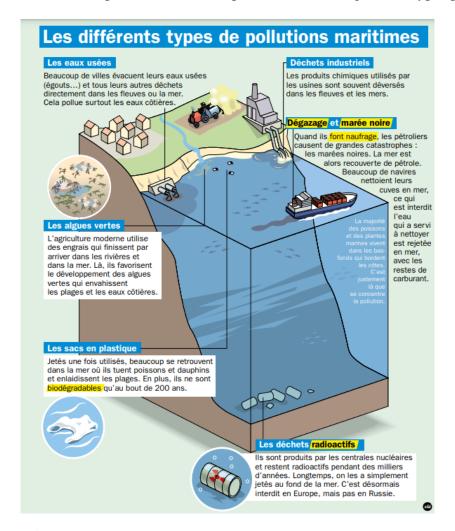


Figure 1: Schéma des différents types de pollutions maritimes.

2-1-1-Pollution physique:

La pollution physique est liée aux facteurs influençant sur l'état physique de l'eau tels que la température, la présence des particules et le changement de l'effet réfractaire de l'eau (Ammamra et Boudrbala, 2020), ainsi que les rejets susceptibles de provoquer une nuisance radio-activique telle que l'industrie nucléaire (**CHARTIER**, 1974).

2-1-2-Pollution chimique:

Les pollutions chimiques sont plus diversifiées, car le nombre de molécules naturelles et d'artefacts connus varierait de 15 à 37 millions selon les sources (BARNABE, 2016), ils provoquent des déséquilibres biologiques à court ou long terme (BORDET, 2007).

- A court terme : la dose fait le poison, souvent, si l'on supprime la cause, l'effet disparait rapidement

- A long terme : les rejets du substances toxiques qu'ils proviennent d'industries, d'égouts urbains, des transports ou de l'utilisation des pesticides en agriculture.

2-1-3-Pollution biologique:

Elle résulte des micro-organismes présents dans les eaux proviennent de l'air, du sol, des plantes ou des animaux vivants ou en état de décomposition, de même que des excréments de l'homme. La présence potentielle de cette multitude d'espèces bactériennes soulevé un problème sérieux de sante individuelle et publique (**DRAPEAU**, 1977).

Elle est due aussi à De nombreuses invasions biologiques induisent des perturbations écologiques qui se propagent à tous les niveaux d'organisation biologique au sein des écosystèmes receveurs (CUCHEROUSSET ET AL, 2015), tel que espèces exotiques envahissantes ayant été introduits intentionnellement ou non (OTERO ET AL, 2013), par différentes voies comme le transport maritime ou l'aquaculture (NARDO, 2022).

3-Classification de pollution marine selon son origine :

Suivant l'origine des substances polluantes, on distinguera :

3-1- Pollution domestique

Provenant des habitats, les sources d'émission sont historiquement classées entre les eaux vannes, les eaux résultant de la contribution des excréments, papier toilette, eau de chasse et autres déversements accidentels et les eaux ménagères représentées par les eaux usées domestiques collectées (BOUTIN ET EME, 2016), ces émissions domestiques non épurées représentent la principale source de pollution organique des eaux (BAHROUN ET KHERICI, 2011), sont aussi responsables directement de certaines maladies respiratoires (CHENNOUFI ET AL, 2023). La pollution domestique se caractérise par (GAUJOUS, 1995):

- Des germes fécaux ;
- Des fortes teneurs en MO;
- Des sels minéraux (azote, phosphate ...);
- Des détergents.

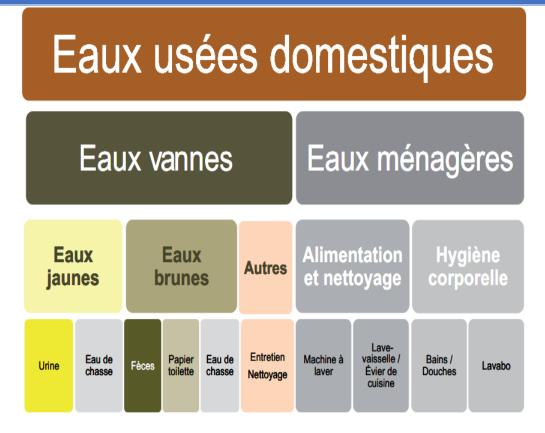


Figure 2: Classification des eaux usées domestiques par source d'émission (BOUTIN, 2016).

3-2-Pollution agricole

Du aux intrants utilisés par les agriculteurs pour augmenter leurs rendements et les effluents d'élevage (BERNARD, 2015), tel que les fertilisants et les pesticides qui altère fortement la qualité et la dynamique de l'eau dans le milieu (LAURENT, 2012), cette pollution est considérée comme « diffuse » Elle se caractérise par (GAUJOUS, 1995) :

- De fortes teneurs en sels minéraux (azote, phosphore, potassium) provenant des engrais, des purins et lisier (élevage);
- La présence de produits chimiques de traitement (pesticides, herbicides...).

2-3-Pollution industrielle

La pollution industrielle provient des activités industrielles telles que les usines, qui génèrent parfois des déchets hautement toxiques. (MONTESTRUCQ ET AL, 2007), le rapport DBO5/DCO est souvent utilisé pour caractériser une pollution industrielle (NAFFRECHOUX ET AL, 2008), ce qui permet de subdiviser les eaux résiduaires industrielles (ERI) en (BOEGLIN, 1999) :

- Eaux résiduaires à caractère minéral dominant ;
- Eaux résiduaires à caractère organique dominant ;
- Eaux résiduaires à caractère mixte.

4-Mode de pollution

4-1-Pollution diffuse

La pollution diffuse se définit comme une dégradation de la qualité des eaux causée par des rejets issus de toute la surface d'un territoire et transmise aux milieux aquatiques de façon indirecte, elle est difficilement a identifié et à localisé (BONNET, 2008),

4-2-Pollution ponctuelle

La pollution ponctuelle à l'inverse de la pollution diffuse, se distingue par la présence ponctuelle dans les sols et sous-sols de substances dangereuses provenant généralement de déversements, de fuites ou de dépôt de déchets. Non confinées et en fortes concentrations, ces substances donnent naissance à des « sites localement contaminés » (MARIA, 2007).

5-L'incidence des déchets organiques sur l'environnement

Les déchets organiques peuvent avoir des impacts négatifs sur l'environnement et provoque de nombreux phénomènes tel que :

5-1-Effet de serre

L'effet de serre est un processus naturel de réchauffement de l'atmosphère qui intervient dans le bilan radiatif de la Terre. Il est dû aux gaz à effet de serre (GES) contenus dans l'atmosphère (GHALEM, 2009). Les gaz à effet de serre sont des molécules complexes formées d'au moins trois atomes ou de deux atomes différents. Le gaz à effet de serre le plus abondant dans l'atmosphère est la vapeur d'eau (H2O) suivie par le dioxyde de carbone (CO2), le méthane (CH4), l'ozone (O3) (MAGAND, 2014).

5-2-Impact d'effet de serre sur l'écosystème marin

Les changements climatiques risquant de fortement modifier la diversité et la répartition des espèces, et la diminution de la diversité biologique pouvant exercer un contrôle important de la vitesse des changements climatiques (BARNARD, 2005).

Par ailleurs, de nombreux liens ont été mis en évidence entre le climat global et le cycle du carbone, en particulier les gaz à effet de serre tels que le dioxyde de carbone et le méthane. Le couvert végétal continental et la biosphère marine présentent aussi des variations synchrones de ces changements climatiques rapides et auraient même eu une action sur le cycle du carbone et donc sur le climat lui-même (**PETIT**, **2003**).

Pour les eaux douces, fleuves et rivières se réchauffent, avec des conséquences bien établies sur la stratification thermique et la composition chimique, l'abondance et la productivité, la composition des communautés (**SEGUINA**, **2008**).

5-3-Relation déchets & effet de serre

Les déchets organiques peuvent jouer un rôle significatif dans l'effet de serre en raison de la libération de gaz à effet de serre lors de leur décomposition. Lorsque les déchets organiques se dégradent dans des conditions anaérobies, ils produisent principalement du méthane (CH4), un puissant gaz à effet de serre. Le méthane a un potentiel de réchauffement global 28 fois supérieur à celui du dioxyde de carbone (CO2) sur une période de 100 ans (**CHANGE**, **2013**).

Des études ont montré que les déchets organiques générés par diverses sources, y compris l'agriculture, l'industrie alimentaire et les activités de pêche, peuvent contribuer de manière significative aux émissions de méthane (RAVISHANKARA ET AL, 2009).

5-4-Eutrophisation

Quant à l'eutrophisation d'un milieu, il s'agit, du fait de devenir eutrophe (donc, de s'enrichir en nutriments). Cette notion a pris naissance pour désigner la progression naturelle de l'état trophique des lacs, c'est-à-dire l'augmentation de la richesse du milieu (de l'oligotrophie à l'hypertrophie, en passant par l'eutrophie) (MENESGUEN, 2001), L'azote et le phosphore sont les deux principaux nutriments responsables de l'eutrophisation (GALVEZ-CLOUTIER, 2002). Ce phénomène caractérisé par un développement anormal de certains types d'algues (OMS, 2003), Affecte la grande majorité des eaux douces et de nombreuses zones du littoral marin (CAPBLANCQ, 2002).

5-5-Impact de l'eutrophisation sur l'écosystème aquatique

Une augmentation de l'azote et du phosphore entraîne une augmentation de la biomasse végétale, générant progressivement une diminution de la pénétration de la lumière dans la colonne d'eau. Ce mécanisme induit une cascade de réactions en chaîne, avec notamment une modification de la structure des communautés biologiques et des réseaux trophiques, ainsi que des changements dans les cycles biogéochimiques. Ces changements peuvent s'opérer de manière progressive, proportionnellement aux forçages, ou au contraire de manière brutale. Les effets les plus notables de l'eutrophisation sont les proliférations végétales, parfois toxiques, la perte de biodiversité et les anoxies qui peuvent se traduire par la mort massive d'organismes aquatiques (PINAY, 2018), ainsi que dégradation de la qualité de l'eau, dégradation des conditions hygiéniques et esthétiques (VOLLENWEIDER, 1970).

L'eutrophisation peut entraîner une diminution de la biodiversité marine en favorisant la croissance de certaines espèces tolérantes aux conditions eutrophiques au détriment d'autres espèces plus sensibles. Cela peut affecter la composition des communautés marines, réduire la diversité des espèces et entraîner des perturbations écologiques (LOTZE ET AL, 2006), elle peut aussi avoir des répercussions sur les populations de poissons, en affectant les habitats, la disponibilité des proies et la qualité de l'eau. Les changements dans les communautés

phytoplanctoniques et la disponibilité de l'oxygène peuvent influencer la disponibilité des ressources alimentaires pour les poissons (NIXON, 2003).

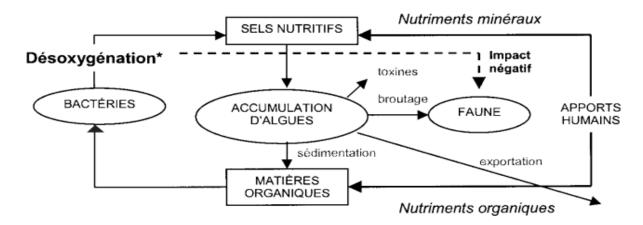


Figure 3: Cycle des éléments nutritifs, lors d'apports en excès (GALVEZ-CLOUTIER, 2002).

5-6-Relation déchets organiques & eutrophisation

Les déchets organiques contribuaient de manière significative à l'eutrophisation de l'écosystème, augmentant la concentration de nutriments et favorisant la croissance des algues (BERNET ET AL, 2000).

Une autre étude menée par **ISLAM ET AL**, (2004). A examiné l'impact des déchets organiques générés par l'industrie de la pêche sur l'eutrophisation des eaux côtières. Les chercheurs ont constaté que les déchets organiques de la pêche, tels que les viscères et les peaux de poissons, étaient riches en nutriments, notamment en azote et en phosphore. Lorsque ces déchets étaient rejetés dans les eaux côtières, ils contribuaient à l'augmentation des concentrations de nutriments, favorisant ainsi la croissance excessive des algues et la détérioration de la qualité de l'eau.

6 Gestion des déchets organiques

La gestion des déchets organiques dans une perspective d'économie circulaire nécessite également des politiques et des infrastructures appropriées. Des incitations économiques, des réglementations environnementales et des programmes de sensibilisation peuvent favoriser la collecte sélective des déchets organiques, leur traitement adéquat et la promotion de pratiques durables (JAMA-RODZENSKA ET AL, 2021).

Une des approches clés de la gestion des déchets est le compostage. Le compostage permet de transformer les déchets organiques en un amendement organique riche en nutriments, pouvant être utilisé dans l'agriculture, l'aménagement paysager et la restauration des sols (KANNAH ET AL, 2020).

Une autre stratégie prometteuse est la méthanisation des déchets organiques. La méthanisation est un processus anaérobie qui permet de produire du biogaz, une source d'énergie renouvelable. Les déchets organiques, tels que les résidus alimentaires et les déjections animales, sont transformés en biogaz par fermentation. Ce biogaz peut être utilisé

pour produire de l'électricité, de la chaleur ou du carburant, contribuant ainsi à la transition vers une économie bas-carbone (ANGELIDAKI ET ELLEGAARD, 2003).

7-L'économie circulaire

C'est une approche qui s'est construite sur des principes provenant d'une série d'autres concepts et écoles développés par des économistes, des physiciens et des écologues (AOUDIA, 2019), qui consiste à un système de production, d'échanges et de partage permettant le progrès social, la préservation du capital naturel et le développement économique. Son objectif ultime est de parvenir à découpler la croissance économique de l'épuisement des ressources naturelles par la création de produits, services, modèles d'affaires et politiques publiques, innovants prenant en compte l'ensemble des flux tout au long de la vie du produit ou service (LAHLOU, 2016).

7-1-Pourquoi l'économie circulaire ?

Deux observations majeures nous obligent à sortir de l'économie linéaire (AUREZ, 2019) :

- 1) La biosphère est affectée par la croissance de l'empreinte environnementale de nos économies de manière systémique.
- 2) Notre système économique se réalise au sein d'un monde fini, dans lequel les ressources sont présentes dans une certaine quantité et avec une capacité de renouvellement spécifique. Cette capacité de régénération peut être irrémédiablement affectée si les ressources sont exploitées au-delà d'un seuil critique

7-2-Piliers de l'économie circulaire

L'économie circulaire peut s'effectuer dans trois domaines (DJOUMESSI, 2019) :

L'offre des acteurs économiques (approvisionnement durable, éco-conception, écologie industrielle et territoriale, économie de la fonctionnalité).

La demande et comportement des consommateurs (consommation responsable, allongement de la durée d'usage des biens).

La gestion des déchets (recyclage).



Figure 4: schéma d'action et pilier de l'économie circulaire (institut national de l'économie circulaire).

7-3-Objectifs de l'économie circulaire

L'économie circulaire se définit en premier lieu par son objectif : répondre aux enjeux environnementaux globaux (**BOURG**, **2018**), et mettre un frein à la pollution par la réduction des déchets et de minimiser l'apport de ressources naturelles vierges qui devraient autrement être extraites avec des répercussions environnementales importantes (**SAUVE**, **2016**)

Ainsi visée d'une part, à accroître l'efficacité du système économique dans son ensemble dans des domaines aussi variés que l'alimentation, la mobilité, l'habitat, l'éducation, la santé et les loisirs (COLLARD, 2020), et Favoriser l'innovation et le développement de solutions adaptées aux besoins locaux (LAHLOU, 2016).

7-3-Valorisation et recyclage des sous-produits de la pêche

La pêche et la transformation des produits de la pêche génèrent une grande quantité de sous-produits (CALLOIS, 2016), implique parfois un volume conséquent de déchets (de 50 à 70% du poids du poisson entier) (PEREZ GALVEZ, 2009). En outre 40 à 50 % en poids de la masse totale des crustacés destinés à la consommation humaine finissent en déchets, et la plupart de ces déchets sont déversés dans la mer et deviennent des polluants importants dans les zones côtières (KOU ET AL, 2021). Certains pays ont adopté des réglementations qui obligent les pêcheurs à ramener leurs déchets organiques à terre pour les éliminer de manière appropriée. Ces réglementations visent à promouvoir une pêche responsable et à réduire la quantité de déchets organiques rejetés en mer. Ce volume c'est une source réelle de matières premières pour la production de substances destinées à l'alimentation humaine et animale, la

cosmétique et la santé (CALLOIS, 2016). De nombreuses voies de valorisation de ces déchets ont été étudiées et parfois mises en pratique (PEREZ GALVEZ, 2009).

7-4-1-Example des voies de valorisation des co-produits d'origine marine

7-4-1-1-Farine et huile de poisson

La fabrication de farine et d'huile de poisson est la voie privilégiée pour la transformation des co-produits d'origine marine mais aussi des prises accessoires (PEREZ GALVEZ, 2009), La farine de poisson, destinée principalement à l'alimentation animale, est une source importante de protéines (60 à 70 g / 100 g) et de lipides (5 à 10 g / 100 g). Dans le monde, les farines de poisson sont produites en grande partie à partir de poissons gras (90 %) tels que la sardine, l'anchois, le capelan (GBOGOURI, 2005).

7-4-1-2-Collagène et gélatines de poisson

Le collagène est la protéine structurale par excellence chez les vertébrés. Chez les mammifères, il s'agit même de la protéine la plus abondante puisqu'on la retrouve dans toutes les matrices extracellulaires (**PORTIER**, **2016**), la gélatine est une protéine obtenue par hydrolyse du collagène contenu dans les arêtes et la peau de poisson (**GOMEZ-GUILLEN**, **2009**).

7-4-1-3-Chitine et chitosane

La chitine est un polymère constitutif de la carapace des crustacés et des insectes et intervient également dans la structure interne d'autres invertébrés. Plusieurs dérivés de la chitine sont utilisés pour leurs propriétés notamment biologiques. Parmi eux, la forme la plus commune est le chitosane, qui est obtenue par désacétylation de la chitine. Le chitosan est utilisé dans un très grand nombre de secteurs tels l'agriculture, la nutrition, le textile, la nutraceutique, la cosmétique et même dans le domaine de la santé pour ses propriétés antibactériennes et antifongiques (CALLOIS, 2016).

Chapitre II

Le choitosane



1 Les biopolymers

1.1 Généralités

Les matériaux polymères biodégradables, et plus particulièrement ceux obtenus à partir de ressources renouvelables, présentent actuellement un attrait indiscutable dans le cadre du développement durable. Ils connaissent un fort développement (10 à 20 % par an) et cette croissance va se poursuivre dans le futur (AVEROUS, 2013), quatre catégories se distinguent : les polysaccharides, les lipides, les protéines et les autres molécules complexes (VISSAC ET AL, 2017).

1.2 Définition d'un biopolymère

Le terme « biodégradable » s'applique aux polymères issus de ressources renouvelables ou non. En effet, la biodégradabilité dépend de la structure chimique du polymère et des caractéristiques du milieu dans lequel il est placé (**DEROINÉ**, **2014**), Selon le Larousse, « biodégradable se dit d'un produit industriel qui, laissé à l'abandon, est détruit par les bactéries ou autres agents biologiques » (**RUTOT**, **2004**).

1.2.1 La chitine

La chitine est un polysaccharide d'origine marine : c'est l'un des polymères naturels les plus abondants au monde. Dont la place dans les cycles biogéochimiques de ses éléments constitutifs mérite d'autant plus d'être précisée que l'importance quantitative de ce polysaccharide dans les écosystèmes (JEUNIAUX, 1993). Ce biopolymère est extrait essentiellement de la carapace des crustacés (principalement crevettes et crabes) (CRINI ET AL., 2009). A été découverte après isolement à partir de champignons supérieurs en 1811 par BRACONNOT (BORNET ET AL., 2005), c'est une haut polymère linéaire B-1,4 de la N-acétyl-D- glucosamine (JEUNIAUX, 1982).

1.2.2 Le chitosane

Le chitosane est un polyoside composé de la distribution aléatoire de D-glucosamine liée en β-(1-4) et de N-acétyl-D-glucosamine. Il est produit par désacétylation chimique ou enzymatique de la chitine. Il est le composant principal de l'exosquelette des arthropodes (crustacés) ou de l'endosquelette des céphalopodes (calamars) ou encore de la paroi des champignons. Le chitosane a donc des propriétés chimiques et biologiques utilisables dans de nombreuses applications industrielles, médicales et **environnementales (TAHTAT ET AL., 2021).**

1.2.2.1 Structure de chitine et de chitosane

Figure 5: Structure chimique de la chitine et du chitosane (BEREZINA ET HUBERT, 2020).

1.2.2.2 Source du chitosane

La plupart des sources de chitine (invertébrés marins et terrestres, zooplanctons, algues, protozoaires chryso-flagelles, champignons inférieurs) (BORNET, 2005). Sur le plan quantitatif, c'est chez les Arthropodes que la chitine est utilisée le plus abondamment : chez les Insectes, elle constitue 20 à 30 % du poids de la matière organique de la cuticule, et, chez les Crustacés, elle représente jusqu'à 70 % de la fraction organique de la carapace. Compte tenu de l'extraordinaire abondance actuelle des Arthropodes dans la nature, 11 est facile d'admettre que la chitine est, après la cellulose, le biopolymère polysaccharidique le plus répandu et le plus abondant dans la biosphère (JEUNIAUX, 1990).

Tableau 1: Pourcentage de chitine dans les êtres vivants marins (AILI,2020).

Sources de chitine Type de chitine Pourcentage de chitine Anatife (Lepas anatifera) Chitine a 7 Crabe marbré (*Grapsus marmoratus*) // 10 Crabe rouge (*Portunus puber*) // 10 Araignée de mer (*Maia squinado*) // 16 Homard (*Homarus vulgaris*) // 17 25 Petite cigale de mer (*Scyllarus arctus*) // Langouste (*Palinurus vulgaris*) // 32 Ecrevisse (Astacus fluviatilis) // 36 22 Crevette (Palaemon fabricius) // Mante de mer (Squilla mantis) // 24 Seiche (Sepia officinalis) Chitine β 20 // Calamar (*Loligo vulgaris*) 40

1.2.2.3 La biosynthèse de la chitine

La biosynthèse de la chitine fait intervenir des enzymes nommées chitine-synthases (CS), de la famille des glycotransférases. Elles catalysent l'association de deux monomères de N-acétylglucosamines. Elles requièrent de l'UDP-N-acétylglucosamine comme substrat et des cations divalents. La biosynthèse est divisée en trois étapes distinctes. Au cours de la première étape, l'enzyme se place le long de la membrane cytoplasmique et oriente convenablement le polymère vis-à-vis de son site actif. La seconde étape est la translocation du polymère à travers la membrane. Il est alors libéré dans l'espace extracellulaire. La dernière étape permet l'assemblage de plusieurs polymères en microfibres cristallines (LE ROUX, 2012).

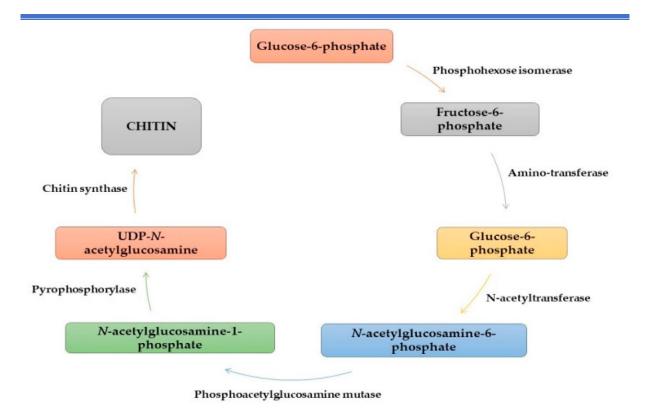


Figure 6: Schéma général de la biosynthèse de la chitine dans les systèmes biologiques (**SANTOS ET AL., 2020**).

2 Généralités sur les crustacés

Les crustacés sont des organismes appartenant à l'embranchement des arthropodes, dont le corps est revêtu d'un exosquelette chitinoprotéique appelé exocuticule et souvent imprégné de carbonate de calcium (AJEAGAH ET AL., 2018). Les 27 000 espèces qui composent la classe présentent une grande diversité de formes et de modes de vie : on les trouve en mer, en eau douce et dans le milieu terrestre. Elles sont libres et mobiles ou fixées sur un support inerte ou vivant. Certaines sont parasites ou commensales d'autres animaux (ADDA-HANIFI, 2007).

2.1 Morphologie générale des crevettes

Les crevettes sont des organismes de taille variant de quelques millimètres à environ 35 cm de longueur (KONAN, 2009). Ce sont des métazoaires à symétrie bilatérale ayant le corps métamérisé Les crevettes ont le corps comprimé latéralement, le rostre denté ou inerme (FISCHER ET AL., 1981). Selon ces mêmes auteurs, elles ont l'abdomen plus long que le céphalothorax contrairement aux écrevisses. Le corps des crevettes est recouvert d'une carapace chitino-protéique rigide imprégnée de calcaire. Il est divisé en trois parties : le céphalon ; le thorax et l'abdomen segmenté et terminé par un telson ou une queue. Le céphalothorax correspond à la fusion de métamères, et ne présente plus de segmentations extérieurement décelables. Il porte cinq paires de pattes marcheuses ou "péréiopodes", une paire d'antennes, une paire d'ecailles antennaires, ainsi que trois paires d'appendices destinés à la prise de nourriture et à la mastication (mandibules, maxillules et maxilles). (GOARANT, 2000).

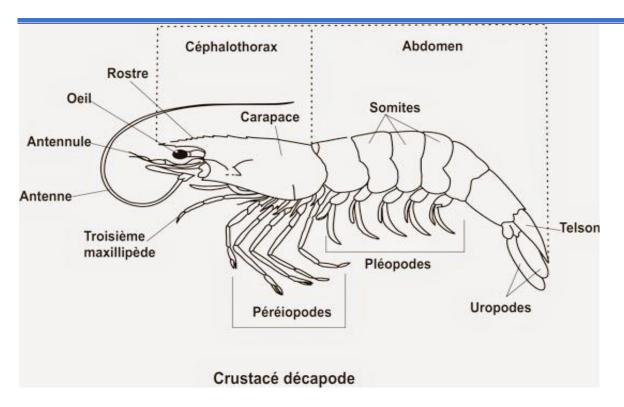


Figure 7: Morphologie externe d'une crevette Pénéide (GOARANT, 2000).

3 Procède d'extraction de chitine et du chitosane

3.1 Procédé chimique :

Les méthodes chimiques de préparation du chitosane comprennent principalement trois étapes de réaction (KOU ET AL, 2021)

- 1. La déminéralisation (la grande majorité de la littérature récente fait état de l'utilisation de HCI à des concentrations allant jusqu'à 10% p/v pour éliminer le CaCO3 dans la coquille en réagissant pendant 2 à 3 heures sous agitation),
- 2. La déprotéinisation [élimination des protéines et des autres substances organiques], la chitine en réagissant avec une solution alcaline chauffée, telle qu'une solution aqueuse de NaOH de 1 % à 10 % (p/p) à des températures de 65 à 100 °C pendant 0,5 à 12 h],
- 3. La désacétylation [conversion de la chitine en chitosane en utilisant une solution alcaline chauffée de 40 % à 50 % (p/p), par exemple une solution de NaOH.

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 vert, favorisant la production de chitine de qualité (Santos et al,2020). Le mécanisme se déroule en trois étapes (YOUNES ET RINAUDO, 2015).

- 1. La déprotéinisation enzymatique Les protéases impliquées dans le processus d'élimination des protéines tel que papaïne, la trypsine, la pepsine, l'alcalase et la pancréatine
- 2. La déminéralisation par l'acide lactique produit par des bactéries.

3. Déacétyclation par la chitine déacétylase enzyeme produit par des bactéries.

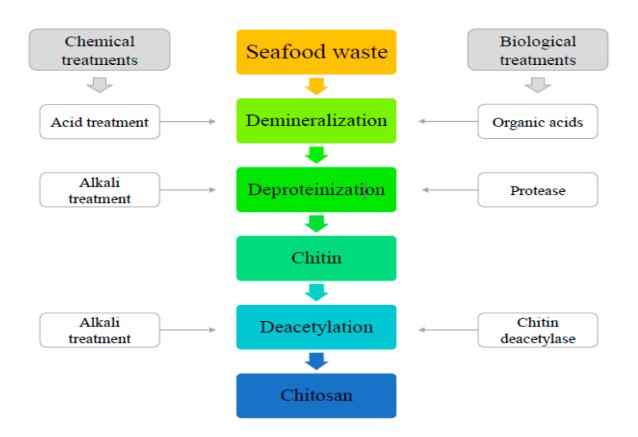


Figure 8: Production de chitine et de chitosan par des traitements chimiques et biologiques **(SANTOS ET AL,2020)**.

4 Production mondiale du chitosane

La production de chitine se situe en majorité en Asie-Pacifique. Les coproduits de crustacés y sont disponibles et la législation liée au retraitement des effluents est peu contraignante. En 2004, on répertoriait 63 producteurs de chitine ayant une place importante sur le marché, dont la moitié en Asie (**LE ROUX,2012**). Le Japon est le premier producteur (**FAO, 2009**).

La demande connue en chitine en 2015 était de plus de 60.000 T. La production mondiale de cette même année a été d'environ 28.000 T. Le marché mondial des dérivés de la chitine devrait atteindre 63 milliards de dollars (www.sflyproteins.fr).

Les applications globales du marché du chitosan incluent le traitement de l'eau, les aliments et les boissons, les cosmétiques, l'industrie (bioplastiques...), la biomédecine et les produits pharmaceutiques, l'agrochimie et d'autres

En constante que production mondiale de chitosane augmente, avec une demande croissante pour les applications dans l'industrie pharmaceutique, l'agriculture et l'environnement. Les propriétés antibactériennes et antifongiques du chitosane ouvrent également de nouvelles perspectives dans la lutte contre la pollution de l'eau et la production d'emballages alimentaires durables. La recherche et l'innovation continuent de s'intensifier dans la production et la purification de cette substance précieuse pour répondre à cette demande croissante (RINAUDO, 2006).

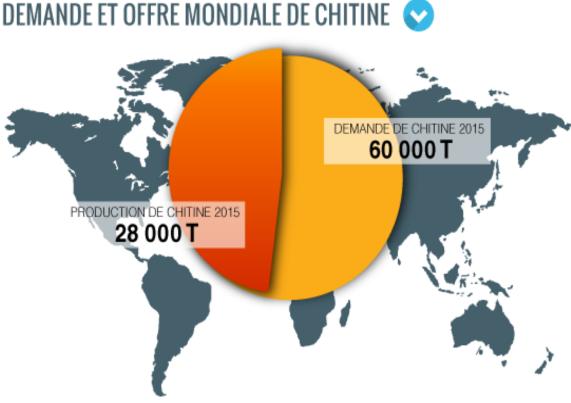


Figure 9: production et demande mondiale de chitine(www.sflyproteins.fr).

5 Les caractéristiques physicochimiques de chitine et du chitosane

5.1 Solubilité du chitosane

Le chitosane présente des propriétés de solubilité complexes qui dépendent de plusieurs facteurs. En raison de sa structure polycationique, le chitosane est généralement insoluble dans l'eau. Cependant, sa solubilité peut être modifiée en ajustant différents paramètres expérimentaux tels que le degré de déacétylation, le poids moléculaire et le pH de la solution (HU ET AL., 2020), la solubilité du chitosane peut être améliorée dans des milieux acides grâce à la protonation des groupes amino présents dans sa structure. De plus, des études montrent que la solubilité du chitosane peut être influencée par la présence d'ions ou de composés spécifiques dans le milieu (NEZHAD ET AL., 2019). Ces facteurs peuvent être utilisés pour ajuster les propriétés de solubilité du chitosane en fonction des besoins spécifiques des applications envisagées. Cependant, il convient de noter que la solubilité du chitosane reste un domaine de recherche actif, avec des études en cours pour mieux comprendre les mécanismes sous-jacents et développer des méthodes de solubilisation plus efficaces (RINAUDO, 2006). La compréhension approfondie de la solubilité du chitosane est essentielle pour son utilisation dans divers domaines tels que l'agroalimentaire, la biotechnologie et la pharmacie.

5.2 Poids moléculaire du chitosane

Le poids moléculaire (MW) est l'un des paramètres les plus fondamentaux dans la caractérisation d'un polymère. Le poids moléculaire du chitosane peut être déterminé par des méthodes telles que la chromatographie, la diffusion de la lumière et la viscosimétrie (**ZADEH**, **2018**).

A l'instar de sa composition, le chitosane est un biopolymère de haut poids moléculaire varie selon la source du produit brut utilisée ainsi que la méthode de préparation. En général, les hautes températures et les conditions drastiques peuvent provoquer la dégradation du chitosane, induisant ainsi la diminution de son poids moléculaire (AILI, 2020).

5.3 Le degré de Désacétylation (DD)

Le degré de désacétylation (DD) représente la proportion d'unités amine-D-glucosamine par rapport au nombre total d'unités glycosidiques. DA et DD sont reliés par l'équation (**ZEMMOURI**, 2008).

$$DD = 1 - DA$$

Le DD est un paramètre structural qui influence les propriétés physico-chimiques telles que la masse moléculaire en poids, viscosité, solubilité, la charge globale et la réactivité, les propriétés mécaniques, le degré de déacétylation du chitosane varie entre 56 et 99% avec une moyenne de 80%, dépendamment des espèces et des méthodes de préparation (BEN DHIEB, 2014).

Diverses méthodes ont été développées afin de déterminer le degré de désacétylation il s'agit de (**ZEMMOURI**, **2008**) :

- Le titrage potentiométrique (ou volumétrique)
- La spectrométrie infrarouge (IR)
- La spectrophotométrie ultraviolette visible (UVVIS), l'analyse élémentaire
- La résonance magnétique nucléaire (RMN)

5.4 La viscosité

Les chitosanes à masse moléculaire élevée donnent généralement des solutions très visqueuses, souvent non souhaitables pour la manipulation industrielle. Certains facteurs au cours du traitement, tels que le degré de désacétylation, le poids moléculaire, la concentration de la solution, la force ionique, le pH et la température, affectent la viscosité du chitosane. Cette dernière diminue avec une durée accrue de déminéralisation (MOORJANI, 1975). Pour du chitosane dans l'acide acétique, la viscosité a tendance à augmenter avec la diminution du pH, alors qu'elle diminue avec la diminution du pH dans le HCl (DESBRIERES, 2002).

Pour mesurer la viscosité des solutions de chitosane on utilise la viscosimétrie capillaire qui consiste à déterminer la viscosité intrinsèque de la solution diluée de polymère qui est liée à la masse molaire moyenne viscosimétrique du polymère par l'équation de Mark-Houwink (PAYET, 2005):

$$[\eta] = kMv$$

5.5 Cristallinité

La cristallinité est également un paramètre important car elle permet de contrôler un certain nombre de propriétés comme les propriétés de gonflement dans l'eau [33]. Généralement la cristallinité est déterminée par des mesures de diffraction de rayons X ou par résonance magnétique nucléaire (RMN). En effet, le chitosane est généralement un matériau semi cristallin (ESSABTI, 2018).

L'état cristallin du chitosane dépend aussi des procédés d'obtention, des études ont montré la dépendance de la cristallinité du degré d'acétylation : le taux de cristallinité ainsi que la taille cristalline augmentent avec le DA (HIJAZI, 2014).

6 Les caractéristiques biologiques du chitosane

6.1 La biodégradabilité

En général, les polysaccharides sont dégradés par hydrolyse enzymatique. Le chitosane n'échappe pas à la règle. Aucune dégradation appréciable n'est notée dans les milieux neutres sans enzymes et à température ambiante (73,74). Le chitosane non modifié chimiquement est considéré comme étant un polymère biodégradable, après biofrag-mentation enzymatique par des chitosanases. Il est également considéré comme biocompatible voire comestible. Après évaluation de la cytotoxicité des matériaux à base de chitosane, aucune cytotoxi-cité vis-à-vis des kératinocytes et des fibroblastes n'a été relevée, confirmant ainsi la biocompatibi-lité de ce type de matériaux (**CRINI ET AL., 2009**).

6.2 La biocompatibilité

La biocompatibilité est une fonction indispensable des biomatériaux pour leurs applications dans le domaine biomédical. Elle réside dans leur capacité à ne pas produire d'effets toxiques ou nuisibles sur les systèmes biologiques. 187. 188 Cette fonctionnalité peut inclure d'autres aspects des biomatériaux tels que la cytocompatibilité, la non-toxicité... (DIALLO, 2018).

Plusieurs études sont rapportées dans la littérature sur l'usage du chitosane seul ou lié à d'autres polymères synthétiques ou biologiques. Sa biocompatibilité a fait l'objet de plusieurs investigations (CHELLAT, 1999).

6.3 L'activité antimicrobien

Le chitosane présente une activité antimicrobienne face aux différents groupes de microorganismes, bactéries, virus, champignons, et levures (**PEREZ-MATEOS**, **2009**). C'est la raison pour laquelle on l'utilise comme additif de conservation afin d'éviter la détérioration des aliments et la prolifération bactérienne (Benhamou, 2012). La taille des oligomères de chitosane joue un rôle important dans l'induction de résistance. Ainsi, des oligomères de 7 à 12 unités sont plus performantes en termes d'activité antimicrobienne (**PEREZ-MATEOS**, **2009**). L'interaction entre les microorganismes et le chitosane dépend d'une part de l'espèce microbienne, et d'autre part du type et de la concentration en polymères, **NO** *ET AL*. (**2002**) ont rapporté que le chitosane ayant un degré de désacétylation de 75% a permis une meilleure activité antimicrobienne contre des bactéries Gram-positives et des bactéries Gram-négatives

comparativement aux chitosane avec un degré de désacétylation de 90% et 50% (BENABBOU, 2009).

6.4 L'activité antifongique

Plusieurs études ont démontré l'efficacité du chitosane comme agent antifongique. Par exemple, une étude publiée dans le journal Carbohydrate Polymers a montré que le chitosane avait une activité antifongique contre différentes souches de Candida, un genre de champignon souvent impliqué dans les infections fongiques chez l'homme (FAWZYA ET AL, 2019). De même, une autre étude publiée dans le journal International Journal of Biological Macromolecules a montré que le chitosane avait une activité antifongique contre des souches de Fusarium, un genre de champignon qui affecte les plantes et les animaux (YIEN ET AL., 2012).

En outre, le chitosane présente des avantages par rapport aux antifongiques conventionnels tels que l'amphotéricine B et le fluconazole, car il est moins toxique et a une action plus ciblée sur les cellules fongiques (RABEA ET AL., 2003). Le chitosane peut également être utilisé en combinaison avec d'autres agents antifongiques pour potentialiser leur activité. En somme, les propriétés antifongiques du chitosane en font une option prometteuse pour le développement de nouvelles thérapies antifongiques (SHIH ET AL., 2019).

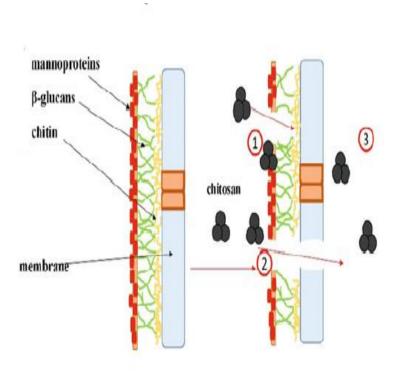


Figure 10: Mécanisme proposé de l'activité antifongique du chitosane (KULAWIK ET AL, 2020).

6.5 Effet antioxydant

Le chitosane et ses dérivés peuvent être utilisés pour retarder ou prévenir l'oxydation d'autres composés, principalement les graisses (lipides), ce qui évite à l'aliment de rancir. Encore une fois, son rôle est d'extraire et de fixer les métaux, et/ou de se combiner aux lipides. Son efficacité dépend de sa concentration et du type de chitosane utilisé. Des exemples peuvent être trouvés dans la littérature sur la capacité du chitosane à réduire l'oxydation lipidique dans la chair de poisson, des produits de la pêche, et dans les viandes. Le chitosane permet par exemple d'extraire le fer qui est responsable des mauvaises odeurs dans les viandes (PEREZ-MATEOS, 2009).

7 Domaines d'applications

Le chitosane présente des propriétés physico-chimiques et biologiques qui permettent d'envisager son utilisation pour de nombreuses applications dans les domaines du biomédical, la cosmétique, l'agroalimentaire, l'agriculture mais aussi le traitement de l'eau (WLODARCZYK, 2015).

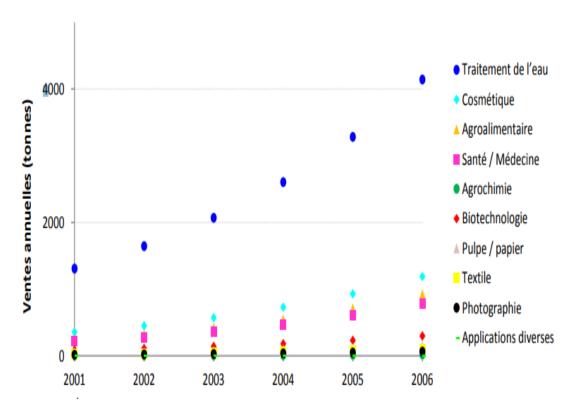


Figure 11: L'évolution des domaines d'application pour lesquels le chitosane est employé (LE ROUX,2012).

7.1 Domaine pharmaceutique et médical

Récemment, l'utilisation de vecteurs colloïdaux fabriqués à partir de polysaccharides hydrophiles comme le chitosane s'est imposée comme une alternative prometteuse pour améliorer le transport de molécules à travers les membranes biologiques. En étudiant les systèmes de relargage contrôlé à base de chitosane, des chercheurs ont prouvé qu'en plus de sa biocompatibilité, sa biodégradabilité et sa faible toxicité, le chitosane excellait à améliorer le

transport de produits actifs à travers les membranes cellulaires. Dans ce contexte, le chitosane a été utilisé pour la préparation de microcapsules et de microsphères encapsulées avec des protéines, des enzymes, l'ADN et des cellules, en tant que système de libération nasale de l'insuline (BENBETTAIEB, 2015).

7.2 Traitement des eaux

Le chitosane a également été étudié pour son potentiel dans le traitement de l'eau en raison de ses propriétés de liaison aux métaux lourds et aux contaminants organiques. Des études ont montré que le chitosane peut être utilisé comme un adsorbant efficace pour éliminer les métaux lourds tels que le plomb, le cuivre et le cadmium de l'eau (GUPTA ET AL., 2010). En outre, le chitosane a été trouvé pour être efficace dans l'élimination des polluants organiques tels que les composés phénoliques, les herbicides et les pesticides de l'eau (WANG ET AL., 2017). Le chitosane peut être utilisé sous forme de granules, de membranes ou de revêtements pour la purification de l'eau. Les membranes de chitosane sont souvent utilisées pour la filtration de l'eau en raison de leur perméabilité sélective et de leur capacité à éliminer les impuretés sans altérer la composition chimique de l'eau (LEE ET AL., 2013). En outre, les granules de chitosane peuvent être utilisés pour le traitement des eaux usées industrielles, où ils peuvent réduire la concentration de polluants organiques et inorganiques dans l'eau (ELTAWEIL ET AL., 2021).

Tableau 2: applications du chitosane dans le domaine de l'environnement (**ALJAWISH**, **2013**).

Champ d'application	Application
Traitement de l'eau potable	Ingénierie de l'eau (coagulation /floculation, filtration, adsorption)
Traitement des eaux usées	Agent coagulant
Traitement des eaux de piscines	Agent chélatant de cations
Chélation de métaux lourds	Réduction des métaux toxiques et radio- isotopes
Récupération de métaux précieux	Récupération de métaux réutilisables
Décoloration des eaux	Enlèvement du fer et du manganèse des piscines
Filtration membranaire	Agent décolorant
Traitement des boues	Agent déshydratation des boues

7.3 Agriculture

Le chitosane, est de plus en plus utilisé comme un agent biostimulant dans le domaine agricole. Sa capacité à améliorer la croissance des plantes, augmenter leur résistance aux pathogènes et améliorer la qualité des récoltes en font un choix attrayant pour les agriculteurs soucieux de l'environnement. Des études ont montré que l'application de chitosane sur les cultures de tomates peut augmenter la résistance de la plante au mildiou et à la pourriture grise, tout en améliorant la qualité et la quantité de la récolte (EL HADRAMI ET AL., 2010).

Le chitosane a été étudié comme un additif pour améliorer l'efficacité des fertilisants et des pesticides. Des études ont montré que le chitosane peut augmenter l'adhérence des pesticides aux plantes, prolongeant ainsi leur efficacité et réduisant la nécessité d'applications répétées (KASHYAP ET AL., 2015). Le chitosane peut également agir comme un activateur pour les engrais, en améliorant leur absorption par les racines et en stimulant la croissance des plantes (Chavan et Deshpande, 2013). En outre, l'application de chitosane sur les cultures peut stimuler les processus biologiques dans le sol, augmentant ainsi la disponibilité des nutriments pour les plantes (RAFIEE ET AL., 2016). Cependant, il est important de noter que la qualité et la concentration du chitosane sont des facteurs critiques pour son efficacité en tant qu'additif pour les fertilisants et les pesticides. Des études ont montré que des doses élevées de chitosane peuvent inhiber la croissance des plantes, tandis que des doses trop faibles peuvent ne pas être suffisamment efficaces (BAUTISTA-BAÑOS ET AL., 2006). Par conséquent, une utilisation judicieuse et régulée de chitosane est importante pour maximiser ses avantages tout en minimisant ses effets indésirables

Tableau 3: applications du chitosane dans le domaine agricole (CRINI, 2006, 2000).

Enrobage de semences (encapsulation)
Immobilisation cellulaire (horticulture)
Fongicide (bio-pesticide)
Fertilisant
Protection des cultures
Traitement des sols
Contrôle des métaux essentiels à la croissance des plantes
Alimentation animale et vaccination animale

7.4 Agroalimentaire

Dans les industries alimentaires, l'utilisation du chitosane n'est pas encore généralisée, à l'exception des pays asiatiques comme le Japon où de nombreux produits alimentaires enrichis en chitosane (nouilles, pâte de soja) sont trouvés. Aux Etats-Unis, le chitosane est utilisé comme

ingrédient fonctionnel et comme film comestible pour protéger les aliments. En Europe, la réglementation sur l'utilisation du chitosane dans le domaine alimentaire est encore restrictive, il est utilisé comme un complément alimentaire (ALJAWISH, 2013). Les propriétés antioxydantes de l'extrait de chitosane sont d'un grand intérêt pour l'industrie alimentaire, puisqu'il peut être utilisé comme additif naturel en raison de la tendance croissante à remplacer les antioxydants synthétiques par des antioxydants naturels (YOUCEFIET RAIZI, 2012). Les applications du chitosane dans le domaine agroalimentaire sont décrites dans le Tableau :

Tableau 4: applications du chitosane dans le domaine agroalimentaire (ALJAWISH, 2013).

Additifs (liant, émulsifiant, stabilisant, épaississant, de conservation)

Clarification, désacidification et détoxification on des boissons et des liquides alimentaires

Activité antibactérienne (préservation des aliments) enrobage alimentaire

Effet antioxydant (prévention de l'oxydation)

Formation de films (emballage)

7.5 Cosmétique

Dans le domaine cosmétique, les propriétés filmogènes et cationiques du chitosane sont exploitées dans de nombreuses crèmes ou lotions de soin pour les cheveux ou la peau. Un nombre croissant de produits à base de chitosane arrivent sur le marché. On peut citer en exemple les pommades ou les crèmes antifongiques, antidermatoses ; les crèmes amincissantes où le chitosane peut servir de vecteur ; les crèmes revitalisantes, raffermissantes ; ou tout simplement des crèmes hydratantes (**DESBRIERES**, **2002**).

Tableau 5: applications du chitosane dans le domaine de la cosmétique (CRINI, 2006).

Rétention (humidité), agent hydratant (humidifiant)
Agent anti-électrostatique (propriétés de gainage)
Agent épaississant (gélifiant), agent stabilisant (émulsion), agent de liaison
Agent antiallergique
Agent fongicide et bactéricide (propriétés antimicrobienne)
Relargage d'ingrédients, surfactant
Crèmes de soins, hydratantes, cicatrisantes, anti-âge (crèmes antirides)
Filtres solaires

Matériel et méthodes



MATERIEL

1 Echantillonnage

1.1 Les Sortie en mer

Dans le but de collecter des espèces de crustacés non calibrés interdit de commercialisation et jetés par les chalutiers riches en chitine pour l'extraction de chitosane, un échantillonnage c'est effectué sur deux sorties en mer par le biais du navire MOULAY dans la région de Ghazaouet à Tlemcen.

Les sorties s'est déroulée à bord d'un chalutier spécialement équipé pour cette tâche. Le navire, d'une longueur de 24 mètres et d'une capacité de 40 tonneaux, était propulsé par un moteur de 500 kW, assurant une puissance adéquate pour mener à bien les opérations de pêche.

Le départ de la première sortie a eu lieu le 5 mars 2023, vers 22 heures, dans des conditions météorologiques favorables. À 23 heures, nous avons procédé à la mise à l'eau du chalut semi-pélagique, un engin de pêche spécifique pour cibler les espèces du font et de démersale désirées. La zone de pêche choisie pour cette opération d'échantillonnage était principalement la pêche côtière, située entre les coordonnées géographiques suivantes : 35°06.001′N, 02°04.239′W et 35°07.264′N, 01°56.625′W. Cette zone présentait des profondeurs variantes entre 28 brasses et 32 brasses, offrant un habitat propice aux espèces de crustacés recherchées.

La deuxième sortie a eu lieu le 12 mars 2023, dans lesquelles nous avons apporté quelques modifications à notre approche pour cibler d'autres espèces de crustacés. Le départ a été effectué vers 20 heures, afin de profiter des conditions propices à la pêche. Vers 22 heures, cependant, nous avons changé la position géographique pour cibler des espèces de crustacés différentes. La zone de pêche sélectionnée pour cette deuxième sortie s'étendait entre les coordonnées géographiques suivantes : 35°15.432'N, 01°55.101'W et 35°14.890'N.



Figure 12: Navire MOULAY 1 (Original 2023).

La sélection de ces zones de pêche côtière était basée sur des considérations telles que les habitats favorables aux crevettes et la disponibilité des ressources nécessaires à leur survie. De plus, elle offrait des opportunités de collecte pratiques et efficaces tout en minimisant les impacts environnementaux potentiels.



Figure 13: Marsupenaeus japonicus (Original 2023).



Figure 14: Palaemon serratus (Original 2023).

1.2 Matériel biologique utilisé pour l'extraction

Les co-produits issue de la biomasse des crustacés récupérés lors des deux sorties en mer nous ayant servi de matière première pour l'extraction de la chitine et du chitosane.

1.3 Souches bactériennes utilisées

Staphylococcus aureus ATCC 6538 et Escherichia coli ATCC 25922 ont été utilisées dans la présente étude. Le tableau suivant exprime : le milieu de culture, la température de croissance et le temps 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	
Escherichia coli ATCC 25922	Laboratoire de recherche LAMAABE, Tlemcen	BHI (réf. 804251, Laboratoire Conda S.A, Madrid, Spain)	37 °C	
Staphylococcus aureus ATCC 6538	Laboratoire de recherche LAMAABE, Tlemcen	BHI (réf. 804251, Laboratoire Conda S.A, Madrid, Spain)	37 °C	

1.4 Les milieux de cultures utilisés

Les souches pathogènes, *Escherichia coli* ATCC 8739 et *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, ont été réactivées et cultivées en utilisant 9 ml de bouillon de cœur-cervelle BHI (Brain Heart Infusion : réf. 804251, Laboratoire Conda S.A, Madrid, Espagne) à partir de précultures. L'incubation a été effectuée à une température de 37 °C pendant 24 heures.

Un milieu Mueller-Hinton (réf. TM 325, TITAN BIOTECH LTD, Rajasthan, Inde) à pH 7,3 \pm 0,2 avec une gélose molle a été utilisé. Pour évaluer la sensibilité des bactéries sélectionnées aux extraits de chitosane provenant de carapaces de crevettes, Ces milieux de culture ont été stérilisés dans un autoclave (SANOclav) réglé à 121 °C pendant 15 minutes.

1.5 Matériel animal

Les rats utilisés dans cette étude étaient des rats Albino Wistar. Ce sont des mammifères de l'ordre des rongeurs, largement utilisés dans divers domaines de recherche. De sexe féminin, non gestants, pesant environ 250 ± 50 g. Ces rats ont été soumis à une période d'adaptation de 45 jours environ, Ils avaient un accès libre à la nourriture fournie par une société locale de production d'aliments pour souris et rats (SARL, Bouzeréah, Alger) ainsi qu'à de l'eau minérale (Nestlé). Les rats étaient maintenus dans un environnement à température constante de (22 ± 3) °C et soumis à un cycle de lumière de 12 heures suivi de 12 heures d'obscurité.





Figure 15: Lot de rats witar (original 2023). Figure 16: photo d'un rat wistar (original 2023).

1.6 Conditions d'adaptation des rats

Des rats en bonne santé ont été acquis auprès de l'animalerie des labos de la recherche biologie et chimie de l'université de Tlemcen. Ils ont été logés dans des cages en plastique grillagées équipées de mangeoires et d'abreuvoirs. Les rats ont été maintenus dans des conditions environnementales standard comprenant une température ambiante de 25 °C, une humidité ambiante de 40 à 70% et un cycle lumière/obscurité de 12 heures.

La cage a été changée quotidiennement tout au long de l'expérience afin de maintenir une hygiène optimale pour les rats, en remplaçant les copeaux de sciure. Les animaux ont été nourris avec un régime alimentaire standard sous forme de croquettes, et l'eau stérile

2 Méthodes:

2.1 Prétraitement des carapaces de crevettes

Après échantillonnage et collecte de crustacés, nous avons procédé à la préparation des carapaces pour l'extraction du chitosane.

Tout d'abord, chaque crevette a été soigneusement décortiquée afin de retirer tous les viscères. Cette étape était cruciale pour obtenir des carapaces de qualité optimale, sans aucun résidu biologique indésirable. Ensuite, les carapaces ont été minutieusement lavées à l'eau du robinet pour éliminer les impuretés et les contaminants potentiels. Une fois nettoyées, les carapaces ont été disposées dans un espace de séchage spécialement aménagé. Nous avons choisi de les laisser sécher naturellement, en les exposant à l'air ambiant pendant une période déterminée (12 heures) selon (P. PADIDA ET AL., 2020). La phase de séchage pour éliminer toute humidité résiduelle et garantir la stabilité des carapaces avant le traitement ultérieur. Une fois les carapaces complètement séchées, elles ont été soumises à une étape de broyage. Pour ce faire, nous avons utilisé un broyeur spécifique adapté au traitement des matériaux durs tels que les carapaces de crustacés. Les carapaces ont été introduites dans le broyeur, qui les a réduites en une poudre fine et homogène. Ensuite, afin d'obtenir une poudre de chitosane de granulométrie uniforme, nous avons passé la poudre obtenue à travers un tamis à porosités différentes entre 1mm et 80µm de diamètre. Cela nous a permis de sélectionner les particules de la taille souhaitée, éliminant ainsi les éventuels agglomérats ou fragments indésirables. La poudre de carapaces de crustacés obtenue après le broyage et le tamisage a été considérée comme prête pour le traitement ultérieur. Elle constitue la matière première à partir de laquelle nous avons extrait le chitosane.

Toutes les étapes de manipulation des carapaces et de traitement du matériel biologique ont été effectuées dans des conditions strictes d'hygiène et de sécurité, en suivant les bonnes pratiques de laboratoire pour éviter toute contamination croisée ou altération des échantillons



Figure 17: les etapes de prétraitements des carapaces de crevettes (originals, 2023).

1 : Carapaces lavées. 2 : séchage. 3 : broyage. 4 : carapaces séchées. 5 : tamisage. 6 : farine de carapaces

2.2 L'extraction de chitine / chitosane

L'extraction de chitosane à partir des carapaces de crevettes a été réalisée en suivant un processus en trois étapes : la déminéralisation, la déproteinisation et la déacétylation.

> Déminéralisation

Dans le but d'obtenir de la chitine brute, nous avons mélangé le produit broyé issu du prétraitement à une solution d'acide chlorhydrique HCl 2N dans un rapport 1/10 (p/v) du solvant (Al Shaqsi et al. 2021) puis l'ensemble est soumis à une agitation pendant 30 min à une température de 50°C afin d'éliminer les sels minéraux. La solution est ensuite filtrée et lavée plusieurs fois avec de l'eau distillée jusqu'à neutralisation et séchée à l'étuve à 45°C pendant 24 heures.

> Déprotéinisation

La chitine brute provenant de l'étape précédente a fait l'objet d'un traitement par une solution d'hydoxyde de sodium à 60% en masse dans un rapport 1/10(p/v) (ALDILA *ET AL.* 2020) L'ensemble est soumis à une agitation pendant 1 heure à une température de 90°C pour retirer les protéines des carapaces.

Le mélange ainsi obtenu, est filtré puis lavé plusieurs fois avec l'eau distillée pour éliminer les résidus de NAOH. Après un séchage à température ambiante, nous obtenons une chitine déprotéinée

Déacetylation

Dans ce cas la chitine obtenue est mise en contact avec une solution d'hydroxyde de sodium NaOH 50% en masse à une température de 130 °C, pendant 30 min dans un rapport 1/10. Le produit obtenu est ensuite filtré et lavé plusieurs fois avec l'eau distillée et séché à température ambiante. Le produit obtenu est le chitosane de couleur blanchâtre (**NO** *ET AL*. **2002**).

la figure suivante représente les deux phases de production de la chitine puis sa transformation en chitosane à partir de la farine de carapace à 300 µm. Puis le tableau suivant indique le Protocol expirimental que nous avons procédé basant celui de (Youcefi et Riazi, 2015).

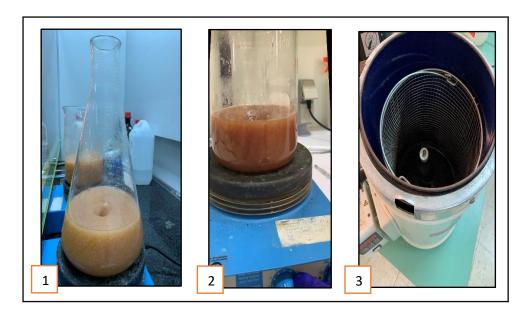


Figure 18: les etapes Production de chitine puis transformation en chitosane (originals, 2023).

1 : étape déminéralisation. 2 : étape de déprotéinisation. 3 : étape de désacétylation.

2.3 Rendement:

Après obtention du poids sec de la chitine ainsi que celui du chitosane pour notre expérimentation, nous avons calculé le rendement à l'aide des équations suivantes (SHIN ET AL., 2019):

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

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

Solubilisation du chitosane

Une quantité de 0,5 g, 1 g et 2 g de poudre de chitosane a été dissoute dans 100 ml de solution d'acide acétique contenant 1% (v/v) d'acide acétique (LUKMAN ET AL., 2021). Ensuite, le mélange a été agité pendant 4 à 8 heures sur une plaque chauffante réglée à une température de 70 °C.

2.5 L'Enrobage

On a mis en place un test d'enrobage par le chitosane à une concentration de 1% sur deux types de fruits (XING ET AL., 2010). À savoir la tomate, et la fraise. Les échantillons ont été gardées à une température ambiante entre 20°C- 25°C. L'objectif principal de cette expérimentation était de surveiller les éventuelles altérations des moisissures sur les fruits par inspection visuel pendant différents durées suite à l'enrobage avec le chitosane, tout en évaluant l'efficacité de ce dernier en tant qu'agent biopréservateur.

2.6 Fabrication de bioplastique

Après avoir effectué la solubilisation directe, nous avons procédé à la formation d'une membrane à base de chitosane. Les solutions ont été autoclavées à 120°C pendant 15 minutes, puis versées dans des boîtes de Pétri à raison de 1 ml par cm² dans des conditions d'asepsie. Ensuite, les solutions ont été séchées dans une étuve à 50°C pendant 72 heures, (DUTTA ET AL, 2004) Pendant le processus de séchage, l'eau contenue dans les solutions s'est évaporée progressivement, permettant la formation d'une membrane solide à base de chitosane. La température de séchage de 50°C a été choisie pour favoriser l'évaporation de l'eau tout en préservant les propriétés structurelles et fonctionnelles de la membrane.

Teste in-vitro 3

Revivification des souches

Les souches identifiées auparavant et conservées sur milieux spécifiques (géloses inclinés) ont été revivifiées sur bouillon nutritif.

La revivification consiste à prendre quelques colonies des tubes contenant les souches conservées et les mettre dans un tube à essai stérile contenant 5ml de Bouillon nutritif préalablement préparé. Après incubation à 37°C (température optimale de croissance de ces bactéries) pendant 24 heures, la croissance est appréciée par l'apparition d'un trouble dans le milieu.

3.2 Purification des souches

L'étape de purification consiste à réaliser un isolement par stries à partir du bouillon d'enrichissement sur géloses spécifiques préalablement coulées sur des boîtes de pétri (milieu Chapman pour Staphylococcus aureus, milieu Mc-Conkey pour Escherichia coli, et gélose Mossel pour Bacillus cereus). L'incubation est réalisée à 37°C pour toutes les souches isolées et ce pendant 24 heures.

L'obtention de colonies de même taille et de même aspect après étuvage, renseignent sur la pureté des souches. Cette pureté est confirmée par observation microscopique après coloration de Gram.

3.3 **Conservation des souches**

La conservation des souches purifiées peut être de courte ou de longue durée. Une conservation de courte durée se fait par ensemencement d'une colonie sur une gélose solide et incliné spécifique à la souche. Après incubation pendant 24 heures à 37°C, ces derniers seront conservés à 4°C pendant quelques semaines.

Une conservation de longue durée permet quant à elle une préservation des souches allant de quelques mois à quelques années. Dans ce type de conservation deux cryoprotecteurs additionnés aux milieux de culture peuvent être utilisés. Ce sont soit le glycérol ou le DMSO (diméthylsylfoxyde). La conservation est faite à -20°C.

Activité antimicrobienne

Nous avons utilisé la méthode de contact direct avec un milieu gélosé (BOUSMAHA ET AL, 2007), avec quelque modification. Deux solutions de chitosane ont été préparées dans de l'acide acétique à 1% (v/v) à des concentrations de 1 et 2% (p/v) Pour cela, nous avons mélangé 15 ml de milieu de culture BHIB avec 1,5 ml d'une solution de chitosane (2%, 1%) dans une boîte de Petri. Par la suite, nous avons déposé des disques imprégnés de Staphylococcus aureus a une concentration de 109 UFC/ml sur le milieu gélosé. Les boîtes de Petri ont ensuite été placées dans une étuve à une température de 37 °C pendant une période de 24 heures. Cette étape avait pour but d'évaluer l'activité antibactérienne du chitosane.

3.4.1 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

L'effet antibactérien du chitosane à différentes concentrations (1% et 2%) sur Staphylococcus aureus ATCC 6538 et Escherichia coli ATCC 25922 a été évalué en déterminant la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) à l'aide de la méthode de microdilutions en bouillon, similaire à celle utilisée par Lima en 2020. Les deux concentrations de chitosane ont été diluées dans du DMSO pour obtenir des concentrations allant de (0,2%,0,5%,0,8%.1%, 2%.) Des plaques à 96 puits de la marque Iwaki (Asahi Techno Glass, Japon) ont été préparées de la manière suivante : 100 µl de bouillon BHI, auxquels ont été ajoutés 100 µl des dilutions en série préalablement préparées, ainsi que 100 µl de l'inoculum bactérien. Deux séries de puits ont été réservés en tant que témoins : un témoin négatif avec 300 µl de milieu de culture stérile et un témoin positif contenant un antibiotique (amoxicilline g). Les séries de puits ont été testées deux fois pour assurer la reproductibilité des résultats. Après 24 heures d'incubation à 37 °C, la CMI a été définie comme la plus faible concentration de chitosane capable d'inhiber totalement la croissance bactérienne, c'est-à-dire lorsque l'on observe une absence totale de turbidité. La turbidité a été évaluée par spectrométrie à l'aide d'un lecteur de microplaques, et une Concentration Minimale Bactéricide (CMB) a également été déterminée.

3.4.2 Détermination des concentrations minimales bactéricides (CMB)

La CMB est définie comme la concentration la plus faible de l'antibiotique qui détruit 99,9% de la concentration cellulaire finale. Après la détermination de la CMI, les deux puits contenant les concentrations en substance antibiotique strictement supérieures à la CMI vont servir pour la détermination de la CMB.

Pour ce faire, un échantillon de 20µL de chaque puits (ne présentant pas de croissance) vont être transférés dans des boites de Pétri contenant du milieu Muller Hinton Agar (MHA). Les boites sont incubées dans une étuve à 35°C pendant 20h. Cette technique nous permet de vérifier si les cellules sont viables et cultivables. La boite de la CMB renferme un nombre de colonies inférieures à 3.

Résultats et discussion



1 Rendement massique de chitine et de chitosane

Les résultats obtenus dans notre étude montrent que la chitine et le chitosane extraits présentaient une couleur blanchâtre avec des nuances orangées pour la chitine et une teinte blanc pâle pour le chitosane (figure 25).

Le rendement en chitine était de 48% et celui en chitosane était de 46% après les étapes de déminéralisation, déprotéinisation et désacétylation. En comparaison avec une étude antérieure menée par SHIN ET AL. (2019), qui mentionnait des rendements de chitosane issus de homards et de crabes variant entre 74,3% et 74,6%, on observe une différence significative, nos rendements semblent relativement plus faibles. Ces résultats suggèrent que la source de la chitine utilisée dans notre étude ou les méthodes d'extraction spécifiques peuvent avoir influencé les rendements obtenus. Il est possible que la dépolymérisation du chitosane, la perte de masse de l'échantillon due à l'élimination excessive des groupes acétyle pendant la désacétylation et la perte de particules de chitosane lors du lavage puissent expliquer ces rendements inférieurs (HOSSAIN ET IQBAL, 2014).



Figure 19: la chitine et le chitosane (original, 2023).

1 : chitine. 2 : chitosane.

Tableau 7: Rendements des différentes étapes d'extraction et de transformation de la chitine en chitosane.

Etape	Déminéralisation	Déprotéinisation	Désacétylation
Rendement (%)	53,7%	48%	46%

2 Solubilité du chitosane

La solubilisation du chitosane à 1% dans l'acide acétique à 1% a révélé des résultats très prometteurs dans notre essai (figure26). Nous avons observé une texture liquide à faible viscosité, indiquant une solubilité presque totale des particules de chitosane. Ces résultats sont en accord avec les propriétés connues du chitosane, Par exemple, une étude menée par Meng, et al.,2020 a rapporté des résultats similaires lors

de la solubilisation du chitosane dans des solutions d'acide acétique à différentes concentrations. De plus, une étude complémentaire réalisée par **Savitri** *et al* **2014** a démontré une solubilisation réussie du chitosane dans des milieux acides, y compris l'acide acétique. Ces constatations concordantes renforcent la validité de nos résultats et confirment l'efficacité de l'acide acétique comme agent de solubilisation pour le chitosane.



Figure 20: chitosane soluble à 1% et 2% (original, 2023).

3 L'enrobage

3.1 L'enrobage de la fraise

Les résultats de l'altération par la moisissure des fraises stockées pendant 8 jours à température ambiante (20-25 °C) sont présentés dans la (Figure27).

L'effet du chitosane enrobage sur l'apparition de l'infection fongique a été évalué en comparant les fraises enrobées avec les fraises non enrobées. Les fraises non enrobées ont commencé à se décomposer à partir du troisième jour de stockage, avec 40% des fruits présentant des signes d'infection fongique. En revanche, lors de l'inspection visuelle, aucun signe de pourriture fongique n'a pu être détecté sur les fraises enrobées pendant les trois premiers jours de stockage. Après six jours de stockage, on observe que seulement 20% des fruits enrobés ont été infectés par des moisissures, tandis que près de 75% de fruit non enrobé a montré des signes d'infection fongique. En outre, au huitième jour de stockage, les fraises enrobées ont montré une incidence d'infection fongique de 35%, tandis que les fraises non enrobées ont atteint une incidence élevée de 90%. Ces résultats confirment que le chitosane a prolongé la durée de vie des fraises et amélioré leur capacité de conservation en réduisant l'infection fongique. Il convient de souligner que ces résultats sont cohérents avec d'autres études similaires qui ont également montré l'effet bénéfique du chitosane enrobage sur la conservation des fruits. Par exemple, l'étude de BENHABILES ET AL (2013) a rapporté des résultats similaires pour les fraises enrobées avec du chitosane.

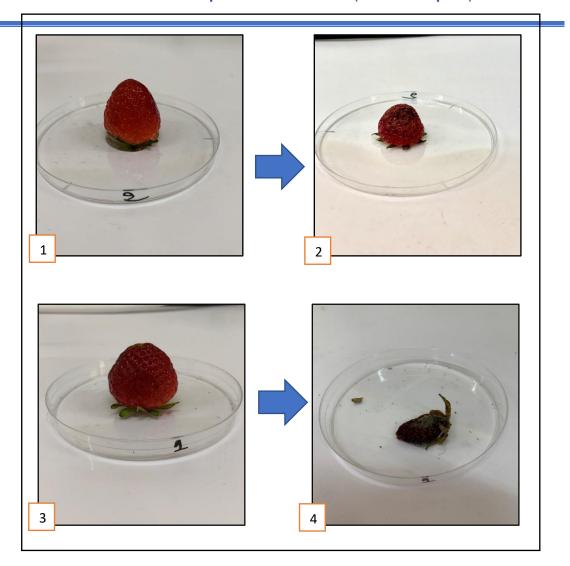


Figure 21: l'etat des fruits après 8 jours (originals, 2023).

1 : fruit enrobé. 2 : fruit enrobé après 8 jours. 3 : fruit non enrobé. 4 : fruit non enrobé après 8 jours.

3.2 Enorobage de tomate

Les résultats des altérations de moisissure et altération physique des tomates stockés pendant 25 jour à température ambiante (20-25 °C) sont présenté dans la figure 28.

L'effet du chitosane sur l'apparition de moisissure et sur la rigidité des tomates a été évalué en comparant entre tomate enrobé et tomate non enrobé. La tomate non enrobée a commencé a se détériorée dès le 5eme jour par une apparition d'une petite infection fongique par apport la tomate enrobée qu'elle reste intacte avec aucune altération sur le plan physique, Lors de 11ème jour infection fongique, elle commence à s'élargir et apparaître dans plusieurs places avec une perte de partielle de fermeté, tandis que la tomate enrobée elle n'a eu aucun changement physique remarquable. Après 25jour le témoin il devient à un état presque moisi avec une perte du poids liée principalement à la respiration et l'évaporation de l'humidité à travers la peau (AYRANCI ET TUNC, (2003). Tandis que l'échantillon enrobé a commencé à perdre sa dureté et son poids

environ 8%. Ces résultats sont en accord avec d'autres études qui ont également démontré l'effet protecteur du chitosane comme l'étude menée par **BENHABILES** *ET AL* **2013** montre que les fruits enrobés ont perdu 11% du poids après 29 jour et une diminution de la fermeté dès le 17eme jour ce qui est similaire avec notre essai. Nous avons conclu que le chitosane à 1% peut prolonger la durée de conservation des tomates et le maintien de la rigidité et la prévention de l'altération de la moisissure.

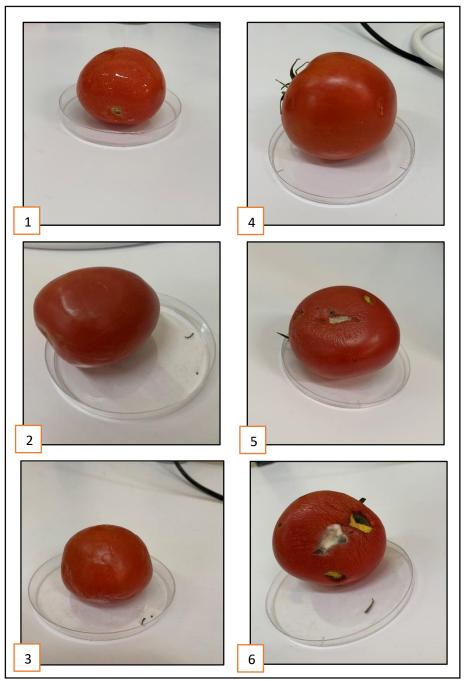


Figure 22: l'état des tomates pendant 25 jour (originales, 2023)

1 : tomate enrobée. 2 : tomate enrobée après 11 jour. 3 : tomate enrobée après 25 jours. 4 : tomate non enrobée. 5 : tomate non enrobée après 11 jour. 6 : tomate non enrobée après 25 jour.

4 Fabrication de bioplastique

Les films de chitosane obtenus avec une belle apparence lisse et transparente témoignent d'un processus de formation réussi (figure 29). Ces caractéristiques visuelles indiquer une structure homogène et une bonne qualité de film. Ces résultats sont cohérents à d'autres études sur les membranes à base de chitosane.



Figure 23 : photo de film formé à base de chitosane (originale, 2023).

5 In-vitro

5.1 Pouvoir antibactérien du chitosane

L'étude sur le pouvoir antibactérien du chitosane a utilisé deux souches pathogènes *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 et *Escherichia coli* ATCC 25922 pour évaluer son efficacité contre ces bactéries les résultats sont présentés dans la figure 30.

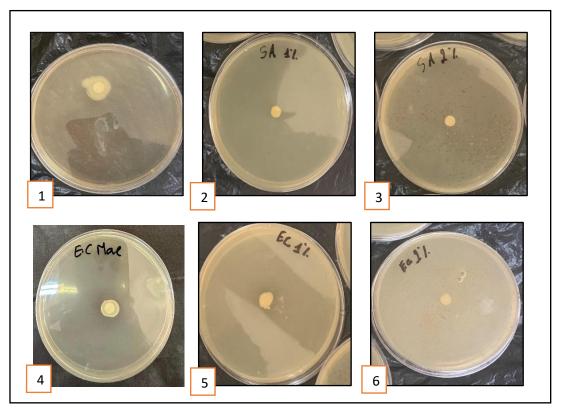


Figure 24 : photo illustrant la présence des zones de proliférations de l'effet de chitosane sur les souches (originales, 2023).

1 : témoin du *s. aureus*. 2 : s. aureus+ chitosane 1%. 3 : *s. aureus*+ chitosane 2%. 4 : témoin du *E. coli*. 5 : *E. Coli* + chitosane 1%. 6 : *E. Coli*+ chitosane 2%.

Les résultats de l'étude ont montré une inhibition de la prolifération bactérienne pour deux concentrations de chitosane, soit 1% et 2%. Dans le cas de *Staphylococcus aureus*, aucune prolifération bactérienne n'a été observée avec les deux concentrations de chitosane, ce qui signifie qu'il y avait une zone d'inhibition complète de la croissance bactérienne autour des disques imprégnés. Pour *Escherichia coli*, une faible prolifération bactérienne de 1 mm a été observée avec une concentration de chitosane de 1%, tandis qu'aucune prolifération n'a été observée avec une concentration de chitosane de 2%, indiquant une inhibition plus prononcée de la croissance bactérienne. En comparant avec des témoins (sans chitosane) qui ont eu une prolifération bactérienne importante entre 13 et 14 mm autour les disques des deux souches.

Ces résultats suggèrent que le chitosane a une activité antibactérienne plus significative contre *Staphylococcus aureus* que contre *Escherichia coli*, et que des

concentrations plus élevées de chitosane conduisent à une inhibition plus efficace de la prolifération bactérienne (LI ET ZHUANG, 2020). Cette inhibition est due à deux mécanismes principaux ont été suggérés pour expliquer l'inhibition des cellules microbiennes par le chitosane. D'une part, la nature polycationique du chitosane interfère avec le métabolisme bactérien par empilement électrostatique à la surface des cellules des bactéries (CHUNG ET AL., 2004). L'autre est le blocage de la transcription de l'ARN à partir de l'ADN par l'adsorption du chitosane pénétré sur les molécules d'ADN. Dans ce mécanisme, le poids moléculaire du chitosane doit être inférieur à une certaine valeur critique (W5000 Da) pour pouvoir pénétrer dans la cellule (BENHABILES ET AL, 2012).

Lorsqu'on compare nos résultats avec ceux de l'étude de SHIN ET AL., (2019), nous observons une similitude dans l'inhibition de la croissance bactérienne grâce à l'utilisation du chitosane. Notre étude démontre une absence de prolifération bactérienne autour des disques imprégnés par la solution bactérienne. Nos résultats sont aussi en accord avec l'étude NO ET AL, (2002) qui a évalué l'activité antibactérienne sur 11 bactéries et ils ont montré que le chitosane a des effets bactéricides sur 11 bactéries notamment Staphylococcus aureus et Escherichia coli.

Les concentrations De chitosane Les souches	0% (Témoin)	1%	2%
	Les zoi	nes de prolif	ération
Staphylococcus aureus	13±1mm	0mm	0mm
Escherichia coli	14±1mm	1±0,25m m	0mm

Tableau 8: l'effet du chitosane sur la prolifération pour les deux souches.

5.2 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La concentration minimale inhibitrice (CMI) correspond à la concentration la plus basse d'un agent antimicrobien qui empêche toute croissance observable d'un microorganisme sur un milieu de culture après une période d'incubation de 24 heures. La CMI est un indicateur important de l'efficacité d'une substance antimicrobienne pour inhiber la croissance d'un micro-organisme donné (Murray et al 2018).

Les résultats de notre étude, utilisant la méthode de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI), confirment le pouvoir antibactérien du chitosane envers les souches bactériennes E. coli et S. aureus. Nous avons observé des résultats positifs envers les deux souches, la concentration minimale inhibitrice de chitosane est de 0, 4 et 0,2% pour S. aureus, et E. coli respectivement. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Tahtat et al (2021), qui ont également démontré l'efficacité antibactérienne du chitosane contre S. aureus. De plus, Beaulieu (2007) a souligné l'effet bactéricide de différentes

concentrations de chitosane sur des colonies de staphylocoques dorés et d'E. coli, avec un taux d'inhibition de 99%.

5.3 Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

Les concentrations minimales bactéricide (CMB) de l'extrait étudié vis-à-vis d'Escherichia coli, et Staphylococcus aureus sont mentionnées dans le tableau :

Tableau 9 : l'effet bactéricide du chitosane sur les deux souches E. coli et S. aureus

Les concentrations De chitosane Les souches	1%
	CMB
Staphylococcus aureus	0.40%
Escherichia coli	0.20%

Les résultats obtenus montrent que l'effet bactéricide du chitosane était important contre la souche E. coli et S. aureus a une concentration de 0.2% ce qui est en concordances avec ceux de YOUCEFI & RIAZI, (2015), qui ont élucidé l'efficacité antimicrobienne du chitosane contre Staphylococcus aureus.

Conclusion



Cette étude avait pour objectif principal de valoriser des co-produits de la biomasse marine non exploitée à travers l'extraction du chitosane. Les résultats obtenus ont permis d'évaluer les propriétés antibactériennes du chitosane, à la fois in vitro et in vivo, et de démontrer son potentiel dans la fabrication de bioplastiques et dans la préservation des fruits.

L'activité antibactérienne du chitosane a été confirmée par le test de contact direct avec le milieu gélosé BHIB et l'estimation de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB). Les résultats ont démontré que le chitosane avait un effet inhibiteur sur les deux souches bactériennes testées, à savoir *S. aureus* ATCC 6538 et *E. coli* ATCC 25922. Aucune prolifération bactérienne n'a été observée autour des disques imprégnés par l'inoculum. Notant que les valeurs de CMI obtenues pour le chitosane étaient de 0,2% pour *E. coli* et 0,4% pour *S. aureus*, respectivement. Ces valeurs confirment l'efficacité du chitosane à inhiber la croissance bactérienne. De plus, une Concentration Minimale Bactéricide (CMB) a été déterminée pour confirmer que le chitosane était également capable de tuer les bactéries.

Le test de fabrication de bioplastiques à base de chitosane a donné des résultats prometteurs, avec l'obtention d'un bioplastique présentant une belle apparence et une structure homogène.

Les résultats ont démontré que l'enrobage par le chitosane a eu un effet bénéfique sur la durée de conservation des fruits.

Suite à l'administration de chitosane les résultats du test antibactérienne in-vivo suggèrent que le chitosane a des effets bénéfiques sur la santé des rats traités en termes d'amélioration des paramètres sanguins et de restauration des tissus affectés par une infection bactérienne avec une diminution significative de la charge bactérienne

L'évaluation de la toxicité du chitosane aux doses de 0,5g ,1g,1,5g et 2g n'a révélé aucun signe de toxicité significative.

Annexes



Références Bibliographiques



Références:

- ABDELLATIF A A., MOHAMMED A M., SALEEM I., ALSHARIDAH M., AL RUGAIE, O., AHMED, F., & OSMAN, S. K. (2022). Smart injectable chitosan hydrogels loaded with 5-fluorouracil for the treatment of breast cancer. Pharmaceutics, 14(3), 661 https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14030661
- ADDA-HANIFI M. (2007). Aspects de la biologie et de la pêche d'un crustacé décapode aristeus antennatus (risso, 1816), exploité au niveau du littoral occidental algérien. Memoire de magister en sciences de l'environnement université d'oran essenia.
- AJEAGAH G A., YOGBACK G E., TCHAKONTE S., NANA G A., BRICHEUX G., SIME-NGANDO, T. & DJIETO-LORDON, C. (2018). Biomorphologie des crustacés d'un cours d'eau peu anthropisé en forêt equatoriale au cameroun. Revue des sciences de l'eau / journal of water science, 31(1), 29–40.
- **AILI D.** (2020). Utilisation d'un biomatériau dans la dépollution (doctoral dissertation, universite mouloud mammeri tizi-ouzou).
- ALDILA H., FABIANI V A., DALIMUNTHE D Y., & IRWANTO R. (2020). The effect of deproteinization temperature and naoh concentration on deacetylation step in optimizing extraction of chitosan from shrimp shells waste. In iop conference series: earth and environmental science (vol.599, no. 1, p: 012003). Iop publishing.https://doi.org/10.1088/1755-1315/599/1/012003
- ALJAWISH A. (2013). Fonctionnalisation enzymatique de chitosane par des composés phénoliques: evaluation des propriétés biologiques et physico-chimiques de ces nouveaux biopolymères (Thèse doctorat, université de lorraine).
- AMAMRA I., BOUDRBALA F. (2020). Les métaux traces dans les moules : etude rétrospective et comparative dans les côtes centrales algériennes (baies de zemmouri, d'alger et de bou-ismail). Mémoire d'ingéniorat. Environnement. Alger : enssmal : p 82.
- ANGELIDAKI I., & ELLEGAARD L. (2003). Codigestion of manure and organic wastes in centralized biogas plants: status and future trends. Applied biochemistry and biotechnology, 109(1-3): 95-105. https://doi.org/10.1385/abab:109:1-3:95
- AOUDIA F. (2019). Dans quelle mesure l'économie circulaire peut-elle aider l'émergence d'un entrepreneuriat environnemental en algérieà [texte imprimé]: cas da la wilaya de tizi-ouzou (doctoral dissertation, universite mouloud mammeri tizi-ouzou).

- AUREZ V., & GEORGEAULT L. (2019). Economie circulaire: système economique et finitude des ressources. De boeck supérieur.
- **AVEROUS L. (2013).** Les polymères biodégradables et biosourcés. L'actualité chimique : 375-376.
- **AYRANCI E., & TUNC S. (2003).** A method for the measurement of the oxygen permeability and the development of edible films to reduce the rate of oxidative reactions in fresh foods. Food chemistry.80(3):423-431. Https://Doi.Org/10.1016/S0308-8146(02)00485-5
- BAHROUN S O F I. A., & BOUSNOUBRA H K. (2011). Evaluation de l'indice de pollution organique dans les eaux naturelles cas de la région d'el tarf (nord-est algérien). Larhyss journal p-issn 1112-3680/e-issn 2521-9782 (9).
- BARNABE G. (2016). Écologie et aménagement des eaux marines : le potentiel des océans et des mers. Lavoisier-tec & doc.
- BARNARD R., LEADLEY P W., LENSI R., & BARTHES L. (2005). Plant, soil microbial and soil inorganic nitrogen responses to elevated co2: a study in microcosms of holcus lanatus. Acta oecologica, 27(3), 171-178. Https://Doi.Org/10.1016/J.Actao.2004.11.005
- BAUTISTA-BAÑOS S., HERNANDEZ-LAUZARDO A N., VELAZQUEZ-DEL VALLE M G., HERNANDEZ-LOPEZ M., BARKA E A., BOSQUEZ-MOLINA E., & WILSON C L. (2006). Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. Crop protection, 25(2): 108-118. Https://Doi.Org/10.1016/J.Cropro.2005.03.010
- **BEAULIEU C. (2007).** Les effets multiples du chitosane. Phytotherapie. 5(suppl. 1): 38–45. Https://Doi.Org/10.1007/S10298-007-0233-7
- **BELGACEM M N., & GANDINI A. (2011)**. Monomers, polymers and composites from renewable resources. Elsevier.
- **BEN DHIEB F. (2014).** Développement et caractérisation de films biodégradables à base d'acide polylactique et de chitosane. Maîtrise en génie chimique.québec, canada.
- BENABBOU R. (2009). Développement et caractérisation de films antimicrobiens pour la biopréservation des produits marins prêts a consommer (Thése de doctorat, université Laval).
- **BENBETTAIEB N.** (2015). Influence de traitements de réticulation sans solvant sur les propriétés de films a base de gélatine et chitosan encapsulant ou non des antioxydants

- naturels : caractérisations physico-chimiques et application (doctoral dissertation, université de bourgogne).
- BENHABILES M S., DROUICHE N., LOUNICI H., PAUSS A., & MAMERI N. (2013). Effect of shrimp chitosan coatings as affected by chitosan extraction processes on postharvest quality of strawberry. Journal of food measurement and characterization, 7, 215-221. https://Doi.Org/10.1007/S11694-013-9159-Y
- BENHABILES M. S., SALAH R., LOUNICI H., DROUICHE N., GOOSEN M. F
 A., & MAMERI N. (2012). Antibacterial activity of chitin, chitosan and its oligomers
 prepared from shrimp shell waste. Food hydrocolloids, 29(1):48-56.
 Https://Doi.Org/10.1016/J.Foodhyd.2012.02.013
- BENHABILES M S., TAZDAIT D., ABDI N., LOUNICI H., DROUICHE N.,
 GOOSEN M F A., & MAMERI N. (2013). Assessment of coating tomato fruit with
 shrimp shell chitosan and n, o-carboxymethyl chitosan on postharvest preservation.
 Journal of food measurement and characterization.7: 6674.Https://Doi.Org/10.1007/S11694-013-9140-9
- **BENHAMOU N., & REY P. (2012).** Stimulateurs des défenses naturelles des plantes : une nouvelle stratégie phytosanitaire dans un contexte d'écoproduction durable. I. Principes de la résistance induite. Phytoprotection.92(1):1-23. Https://Doi.Org/10.7202/1012399ar
- BEREZINA N., & HUBERT A. (2019). Marketing and regulations of chitin and chitosan from insects. Chitin and chitosan: properties and applications, 477-489.
 Https://Doi.Org/10.1002/9781119450467.Ch19
- **BERNARD GERMAIN.** (2015). Pollution de l'eau liée aux activités agricoles, draaf rhône-alpes.
- BERNET D., SCHMIDT-POSTHAUS H., WAHLI T., & BURKHARDT-HOLM
 P. (2000). Effects of wastewater on fish health: an integrated approach to biomarker responses in brown trout (salmo trutta 1.). Journal of aquatic ecosystem stress and recovery, 8, 143-151. https://Doi.Org/10.1023/A:1011481632510
- BOEGLIN J. C. (1999). Pollution industrielle de l'eau : caractérisation, classification, mesure. Techniques de l'ingénieur. Technologies de l'eau, 2(g1210). Doi: 10.51257/A-V2-G1210
- **BONNET M E. (2008).** Evaluation des actions de lutte contre les pollutions diffuses agricoles (curatif/préventif) dans le cadre de la démarche aac. Bassin adour-garonne.

- **BORDET J.** (2007). L'eau dans son environnement rural. Assainissement des agglomérations. Paris : johanet.
- **BORNET A., & TEISSEDRE P. L. (2005).** Applications and interest of chitin, chitosan and their derivatives in enology. Œno one. 39(4): 199-207. Doi: 10.20870/Oeno-One.2005.39.4.890
- BOURBLANC M., & BRIVES H. (2009). La construction du caractère « diffus » des pollutions agricoles. Études rurales, (1): 161-176.
 Https://Doi.Org/10.4000/Etudesrurales.8988
- **BOURG D.** (2018). De l'économie circulaire a l'économie permacirculaire. In annales des mines-responsabilité et environnement (no. 1, pp. 30-33). Cairn/softwin. Doi: 10.3917/Re1.089.0030
- BOUSMAHA-MARROKI L., CASANOVA J., TOMI F., ATIK-BEKKARA F
 (2007). Chemical composition and antibacterial activity of the essentia oil of thymus ciliatus (desf.) Benth.ssp. Eu-ciliatus maire from algeria. Journal of essential oil research 19: 401-404. https://Doi.Org/10.1080/10412905.2007.9699960
- **BOUTIN C., & EME C. (2016).** Caractérisation et traitabilité par voie biologique des effluents domestiques selon leur source d'émission. Synthèse bibliographique. Techniques sciences méthodes.12 : 54-78. Doi: 10.1051/Tsm/201612054
- CALLOIS J M., EGLIN T., GELDRON A., & TREVISIOL A. (2016). Économie circulaire et programmes de développement rural régionaux. Les notes de synthèse capdor, 37.
- CAPBLANCQ J., & DECAMPS H. (2002). L'eutrophisation des eaux continentales : questions a propos d'un processus complexe. Nature sciences sociétés.10(2): 6-17. Doi:10.1016/S1240-1307(02)80066-8
- **CHANGE I C. (2013).** The physical science basis. Contribution of working group i to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change, 1535, 2013.
- CHARTIER., MARCEL M. (1974). Les types de pollutions de l'eau, norois. N 82 : p183-193.
- **CHAUVIN M. (2004).** La réglementation française sur la valorisation agronomique des déchets organiques : organisation et points principaux. Ademe bretagne : pp 12.

- CHAVAN S B., & DESHPANDE M V. (2013). Chitinolytic enzymes: an appraisal as
 a product of commercial potential. Biotechnology progress. 29(4): 833-846.

 Https://Doi.Org/10.1002/Btpr.1732
- **CHELLAT F. (1999).** Biocompatibilité, biodégradation et influence de la stérilisation sur le complexe chitosane-xanthane. École polytechnique de montréal.
- CHENNOUFI A., MOUSSA I., SAHNOUN I., MRASSI H., KALLEL N., BOUGACHA M., & EL GHARBI L. D. (2023). Connaissance des médecins tunisiens sur les effets respiratoires de la pollution atmosphérique. Revue des maladies respiratoires actualités. 15(1). 220. https://Doi.Org/10.1016/J.Rmra.2022.11.393
- CHIEN P J., & CHOU C C. (2006). Antifungal activity of chitosan and its application to control post-harvest quality and fungal rotting of tankan citrus fruit (citrus tankan hayata). Journal of the science of food and agriculture. 86(12):1964-1969. Https://Doi.Org/10.1002/Jsfa.2570
- CHUNG Y C., SU Y P., CHEN C C., JIA G., WANG H L., WU J C G., LIN J G (2004). Relationship between antibacterial activity of chitosan and surface characteristics of cell wall. Acta pharmacologica sinica, 25 (7): 932-936.
- **COLLARD F.** (2020). L'économie circulaire. Courrier hebdomadaire du crisp.24552456(10).5-72.
- CRINI G., BADOT P M., ROBERTS G A., & GUIBAL E. (2009). Chitine et chitosane : du biopolymère a l'application. Presses univ. Franche-comté.
- CUCHEROUSSET J., FRIED G., COTE J., & RENAULT D. (2015). Invasions biologiques et fonctionnement des ecosystèmes ; caractérisation des impacts ecologiques liés aux espèces invasives. Revue d'ecologie, terre et vie, 70(supplement 12) : 49-52. Doi: 10.3406/Revec.2015.1813
- DASH M., CHIELLINI F., OTTENBRITE R. M., & CHIELLINI E. (2011). Chitosan a versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. Progress in polymer science, 36(8), 981-1014. https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.02.001
- **DEROINÉ M. (2014).** Étude du vieillissement de biopolymères en milieu marin (thése doctorat. Université de Bretagne sud.
- DERRADJI F., BOUSNOUBRA H., KHERICI N., ROMEO M., & CARUBA R. (2007). Impact de la pollution organique sur la qualité des eaux superficielles dans le nord-est algérien. Science et changements planétaires/sécheresse, 18(1), 23-27. Https://doi.org/10.1684/sec.2007.0065
- **DESBRIERES J. (2002).** Chitine et chitosane. Actualite chimique, (11/12):39-44.

- **DESBRIERES J.** (2002). Viscosity of semiflexible chitosan solutions: influence of concentration, temperature, and role of intermolecular interactions. Biomacromolecules, 3(2), 342-349. Doi: 10.1021/Bm010151+.
- **DIALLO M.** (2018). Préparation et caractérisations physicochimiques et biologiques de surfaces modifiées par du chitosane (Thèse doctorat, université de Lyon).
- **DJEMACI B.** (2012). La gestion des déchets municipaux en algérie : analyse prospective et eléments d'efficacité. Thèse de doctorat en sciences economiques, université de rouen.
- **DJOUMESSI H K. (2019).** La logistique inverse des emballages dans l'optique d'une economie circulaire en contexte camerounais : enjeux et limites. Doi: 10.21494/iste.op.2019.0344
- DRAPEAU A J., JANKOVIC S., & WORLD HEALTH ORGANIZATION.
 (1977). Manuel de microbiologie de l'environnement. Organisation mondiale de la santé.
- **DUTTA P K., Dutta J., & Tripathi V S.** (2004). Chitin and chitosan: chemistry, properties and applications.
- EL HADRAMI A., ADAM L R., EL HADRAMI I., & DAAYF F. (2010). Chitosan in plant protection. Marine drugs, 8(4): 968-987. Https://Doi.Org/10.3390/Md8040968
- ELTAWEIL A S., OMER A M., EL-AQAPA H G., GABER N M., ATTIA N F.,
 EL-SUBRUITI G M., ... & ABD EL-MONAEM E M. (2021). Chitosan based adsorbents for the removal of phosphate and nitrate: a critical review. Carbohydrate polymers, 274, 118671. https://Doi.Org/10.1016/J.Carbpol.2021.118671
- ESSABTI F. (2018). Mise en œuvre de nanocomposites a matrice chitosane pour renforcer l'imperméabilité aux gaz de films d'emballage alimentaire (doctoral dissertation, paris, ensam).
- FAID O. (2021). Les déchets solides ménagers -impact des déchets sur l'aspect bioéconomique- de la région de m'sila. Mémoire de master en ecologie des milieu naterel : P 57.
- FAWZYA Y N., WIBOWO S., & NORIKO N. (2019). Antifungal activity of chitosan oligomer prepared using chitosanase of aeromonas media klu 11.16. In iop conference series: earth and environmental science (vol. 278, no. 1, p. 012026). Iop publishing. Https://doi.org/10.1088/1755-1315/278/1/012026

- **FISCHER W., BIANCHI G. & SCOTT W. B (1981).** Fiches fao d'identification des espèces pour les besoins de la pêche. Atlantique centre-est. Zone de pêche 34, 47. Fond des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. Ottawa, vol. 6, pages variables.
- FRANCE. OFFICE PARLEMENTAIRE D'EVALUATION DES CHOIX SCIENTIFIQUES ET TECHNOLOGIQUES, & MIQUEL G. (2001). Rapport sur les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. Assemblée nationale.
- GALVEZ-CLOUTIER R., IZE S., & ARSENAULT S. (2002). La détérioration des plans d'eau : manifestations et moyens de lutte contre l'eutrophisation, novembre 2002.
- GAREAU P., GARIEPY A., GINGRAS S., & RASMUSSEN P. (1999). La problématique de la pollution agricole, ses impacts sur la santé des cours d'eau et la santé humaine. Pour une politique de transition a l'agriculture biologique au Québec. Bureau d'audiences publiques sur l'environnement (bape), Montréal.
- **GAUJOUS D.** (1995). La pollution des milieux aquatiques : aide-mémoire. 2e ed. France : technique et documentation. 220 p.
- **GBOGOURI G A.** (2005). Co-valorisation des protéines et des lipides riches en lécithine et en acides gras polyinsaturés oméga 3 a partir de têtes de saumon (*salmo salar*) par hydrolyse enzymatique (Thèse doctorat, Vandœuvre-lès-Nancy, inpl).
- GHALEM A S. (2009). Etablissement du bilan carbone de la direction de distribution d'électricité et de gaz blida sonelgaz distribution centre avec pistes de prédictions.
 Mémoire de magister en energétique, université mohamed bougara, boumerdes.
- GOARANT C. (2000). Epidémiologie et facteurs de virulence des bactéries du genre vibrio responsables de mortalité de crevettes d'élevage en nouvelle-calédonie. Perspectives de lutte (thèse doctorat, université de polynésie française).
- **GOEURY D.** (2014). La pollution marine, in woessner raymond (dir.), mers et océans, paris : atlande, clefs concours.
- GOMEZ-GUILLEN M. C., PEREZ-MATEOS M., GOMEZ-ESTACA J., LOPEZ-CABALLERO E., GIMENEZ B., & MONTERO P. (2009). Fish gelatin: a renewable material for developing active biodegradable films. Trends in food science & technology, 20(1): 3-16. https://Doi.Org/10.1016/J.Tifs.2008.10.002
- **GREGOIRE C.** (2007). Contribution à l'étude de la valorisation des protéines d'hydrolysats obtenues par hydrolyse enzymatique des co-produits (squelette) de la sole tropicale : cynoglossus senegalensis au sénégal. Thèse de doctorat en sciences vétérinaire, université de dakar : p 90.

- GUPTA V K., RASTOGI A., & NAYAK A. (2010). Adsorption studies on the removal of hexavalent chromium from aqueous solution using a low-cost fertilizer industry waste material. Journal of colloid and interface science, 342(1): 135-141. Https://Doi.Org/10.1016/J.Jcis.2009.09.065
- HASSIBA M. Z. (2008). Le chitosane-est-il la molécule du siècle. Division bio-energie et envirenement.
- **HIJAZI N.** (2014). Développement de composites nanostructurés a base de biopolyesters et de nanoparticules de chitosane générées par des procédés assistés par co2 supercritique (thèse doctorat, ecole des mines d'albi-carmaux).
- 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
- HOSSAIN, M. S., & IQBAL, A. (2014). Production and characterization of chitosan from shrimp waste. J. Bangladesh agril. Univ, 12(1), 153–160.
- HU Y., HE C., JIANG C., LIAO Y., XIONG H., & ZHAO Q. (2020). Complexation with whey protein fibrils and chitosan: a potential vehicle for curcumin with improved aqueous dispersion stability and enhanced antioxidant activity. Food hydrocolloids, 104, 105729. https://Doi.Org/10.1016/J.Foodhyd.2020.105729
- **ISLAM, M. S., KHAN, S., & TANAKA, M. (2004).** Waste loading in shrimp and fish processing effluents: potential source of hazards to the coastal and nearshore environments. Marine pollution bulletin, 49(1-2), 103-110. Https://Doi.Org/10.1016/J.Marpolbul.2004.01.018
- JAMA-RODZEŃSKA A., BIAŁOWIEC A., KOZIEL J. A., & SOWIŃSKI J. (2021). Waste to phosphorus: a transdisciplinary solution top recovery from wastewater based on the triz approach. Journal of environmental management, 287: 112235. Https://Doi.0rg/10.1016/J.Jenvman.2021.112235
- **JEUNIAUX, C. (1982).** La chitine dans le regne animal. Bulletin de la société zoologique de France. 107 (3).
- **JEUNIAUX, C., & THOME, J. P.** (1990). Production, extraction et utilisation technologique de la chitine a partir de communautés marines. Océanis, 16(5).
- JEUNIAUX, C., VOSS-FOUCART, M. F., & BUSSERS, J. C. (1993). La production de chitine par les crustacés dans les ecosystèmes marins. Aquatic living resources, 6(4), 331-341. https://Doi.Org/10.1051/Alr:1993034

- JULIE M AUDREY BORNANCIN PLANTIER ET NICOLAS PARASSOURAMIN VALLY (OIEAU (2021). Prise en compte de la problématique des pollutions diffuses dans les pagd des sage, office international de l'eau.
- KANNAH R. Y., MERRYLIN J., DEVI T. P., KAVITHA S., SIVASHANMUGAM
 P., KUMAR G., & BANU J. R. (2020). Food waste valorization: biofuels and value-added product recovery. Bioresource technology reports.11: 100524.
 Https://Doi.Org/10.1016/J.Biteb.2020.100524
- KASHYAP P L., XIANG X., & HEIDEN P. (2015). Chitosan nanoparticle based delivery systems for sustainable agriculture. International journal of biological macromolecules, 77: 36-51. https://Doi.org/10.1016/J.Ijbiomac.2015.02.039
- **KONAN K. M.** (2009). Diversité morphologique et génétique des crevettes des genres atya leach, 1816 et macrobrachium bate, 1868 de côte d'ivoire. Sciences et gestion de l'environnement. Côte d'ivoire, (Thèse doctorat, université Nangui abrogoua : 170.
- KIM S K., PARK P J., YANG H P., & HAN S S. (2001). Subacute toxicity of chitosan oligosaccharide in sprague-dawley rats. Arzneimittelforschung, 51(09), 769-774. Doi: 10.1055/S-0031-1300113
- **KOU S G., PETERS L M., & MUCALO M R. (2021).** Chitosan: a review of sources and preparation methods. International journal of biological macromolecules, 169: 85-94. Https://Doi.Org/10.1016/J.Ijbiomac.2020.12.005
- **KRACHAI N., HADJEL M. (2016).** Etude de la qualité des sédiments marins polluées de la côte ouest de l'algérie. Communication science & technology,vol 16 : P 46.
- LAHLOU C., GILLIBERT O., ESSABBAK K., & HESTIN M. (2016). L'économie circulaire : la nouvelle energie de 1'" entreprise ? Les rencontres responsabilité & performance.larhyss journal, issn 1112-3680, n° 09, décembre 2011 : pp 171-178.
- LAURENT F. (2012). Agriculture et pollution de l'eau : modélisation des processus et analyse des dynamiques territoriales (thèse de doctorat, université du Maine).
- LEE S J., GETACHEW B A., & KIM J H. (2016). Restoring the virus removal capability of damaged hollow fiber membranes via chitosan-based in situ healing. Journal of membrane science, 497: 387-393.https://doi.org/10.1016/j.memsci.2015.09.055
- LE ROUX K. (2012). Purification de la chitine par hydrolyse enzymatique a partir de coproduits de crevette penaeus vannamei. Caractérisations des produits et optimisation du procédé (thèse de doctorat, université de Nantes).

- 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
- 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
- LOTZE H. K., LENIHAN H. S., BOURQUE B. J., BRADBURY R. H., COOKE R. G., KAY M. C., ... & STENECK R. S. (2006). Depletion, degradation, and recovery potential of estuaries and coastal seas. Science. 312(5781): 1806-1809. https://Doi.Org/10.1126/Science.1128035
- 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
- MAGAND C. (2014). Influence de la représentation des processus nivaux sur l'hydrologie de la durance et sa réponse au changement climatique thèse de doctorat, université Pierre et Marie Curie-Paris vi). (nnt : 2014pa066398). (tel-01127507).
- MARIANN L-S., JOANNA G. (2018). Guide sur les polluants océaniques menaces toxiques pour la santé humaine et la vie marine.
- MARIA-VICTORIA PIEDRAFITA CARNICER. (2007). La pollution ponctuelle
 des sols : le cas des stations-service dans la région de bruxelles-capitale, mémoire
 diplômé d'etudes spécialisées en gestion de l'environnement, université libre de
 Bruxelles.
- MENESGUEN A., AMINOT A., BELIN C., CHAPELLE A., GUILLAUD J. F.,
 JOANNY M., ... & SOUCHU P. (2001). L'eutrophisation des eaux marines et
 saumatres en europe, en particulier en france.
- MONTESTRUCQ, L., GUYE, O., PEYSSON, E., & CHARVAT, H. (2007). Tableau de bord régional santé-environnement rhône-alpes.
- MOORJANI M. N. (1975). Parameters affecting the viscosity of chitosan from prawn waste.

- Mourya, V. K., & Inamdar, N. N. (2008). Chitosan-modifications and applications: opportunities galore. Reactive and functional polymers, 68(6), 1013-1051. https://Doi.Org/10.1016/J.Reactfunctpolym.2008.03.002
- MURRAY P.R., BARON E.J., PFALLER M.A., TENOVER F.C., & YOLKEN
 R.H. (2018). Manual of clinical microbiology (11th ed.). American society of microbiology.
- MUTHU S. S. (2012). Sustainable solid waste management in developing countries: a perspective for effective waste management strategies. Journal of material cycles and waste management.14(4): 317-330.
- NAFFRECHOUX E., MAZAS N., & THOMAS O. (1991). Identification rapide de la composante industrielle d'une eau residuaire. Environmental technology, 12(4): 325-332. Https://Doi.Org/10.1080/09593339109385012
- NARDO VICENTE. (2022). Impact du changement climatique sur la biodiversité marine en méditerranée in la mer méditerranée, presses universitaires d'aix-marseille.
- **NELUMBO NUCIFERA GAERTH.** Innovative food science & emerging technologies.11(4): 684-689. Https://Doi.Org/10.1016/J.Ifset.2010.07.006
- NEZHAD-MOKHTARI P., GHORBANI M., ROSHANGAR L., & RAD J. S. (2019). A review on the construction of hydrogel scaffolds by various chemically techniques for tissue engineering. European polymer journal, 117: 64-76. Https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2019.05.004
- **NIXON S. W. (2003).** Replacing the nile: are anthropogenic nutrients providing the fertility once brought to the mediterranean by a great river. Ambio, 32(1): 30-39. Https://doi.org/10.1579/0044-7447-32.1.30
- NO H. K., PARK N. Y., LEE S. H., & MEYERS S. P. (2002). Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. International journal of food microbiology, 74(1-2), 65-72.https://doi.org/10.1016/s0168-1605(01)00717-6
- **OECD.** (2008). Oecd guidelines for the testing of chemicals. Test no. 420: acute oral toxicity fixed dose procedure.
- OTERO M., CEBRIAN E., FRANCOUR P., GALIL B., SAVINI D. (2013). Surveillance des espèces envahissantes marines dans les aires marines protégées (amp) méditerranéennes : guide pratique et stratégique a l'attention des gestionnaires. Uicn : 136 pages.

- PAYET L. (2005). Viscoelasticite et structure de gels à base de chitosane-relations avec les propriétés diffusionnelles de macromolécules dans ces biogels (thèse doctorat, université Paris-Diderot-Paris vii).
- **PEREZ GALVEZ R.** (2009). Le compactage, une solution pour un meilleur management des bioressources marines. Application aux rejets et co-produits de poisson (Thèse doctorat, Ifremer et université de Nantes : p 311.
- **PEREZ-MATEOS M. (2009).** Les applications alimentaires du chitosane et dérivés. In chitine et chitosane (du biopolymère à l'application). Pp : 169-178.
- **PETIT M.** (2003). Effet de serre, impacts et solutions : quelle crédibilité ? Comptes rendus-geoscience, 6(335) : 497-501.
- PINAY G., GASCUEL C., MENESGUEN A., SOUCHON Y., LE MOAL M.,
 LEVAIN A., ... & SOUCHU P. (2018). L'eutrophisation, cnrs ifremer inra irstea (france): 148 pages.
- **PORTIER F. (2016).** Biomateriaux collagène/gélatine : des phases cristal-liquides aux matériaux hybrides (doctoral dissertation, paris 6).
- 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
- RABEA E. I., BADAWY M. E. T., STEVENS C. V., SMAGGHE G., & STEURBAUT W. (2003). Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. Biomacromolecules, 4(6): 1457-1465. https://doi.org/10.1021/bm034130m
- RAFIEE H., NAGHDI BADI H A., MEHRAFARIN A., QADERI A.,
 ZARINPANJEH N., SEKARA A., & ZAND E. (2016). Application of plant biostimulants as new approach to improve the biological responses of medicinal plants-a critical review. Journal of medicinal plants. 15(59): 6-39.
- RAVISHANKARA A. R., DANIEL J S., & PORTMANN R W. (2009). Nitrous oxide (n2o): the dominant ozone-depleting substance emitted in the 21st century. Science, 326(5949), 123-125. Doi: 10.1126/science.1176985
- **RINAUDO M. (2006).** Chitin and chitosan: properties and applications. Progress in polymer science, 31(7): 603-632. Https://Doi.Org/10.1016/J.Progpolymsci.2006.06.001

- **RINAUDO M.** (2006). Chitin and chitosan: properties and applications. Progress in polymer science. 31(7): 603-632. Https://Doi.Org/10.1016/J.Progpolymsci.2006.06.001
- **RUTOT D., & DUBOIS P. (2004).** Les (bio) polymeres biodegradables: l'enjeu de demain?. Chimie nouvelle. (86): 66-74.
- SANTOS, V. P., MARQUES, N. S., MAIA, P. C., LIMA, M. A. B. D., FRANCO, L. D. O., & CAMPOS-TAKAKI, G. M. D. (2020). Seafood waste as attractive source of chitin and chitosan production and their applications. International journal of molecular sciences. 21(12):4290. https://doi.org/10.3390/md13031133
- SATITSRI, S., & MUANPRASAT, C. (2020). Chitin and chitosan derivatives as biomaterial resources for biological and biomedical applications. Molecules, 25(24), 5961. Https://Doi.Org/10.3390/Molecules25245961
- SAUVE S., NORMANDIN D., & MCDONALD M. (2016). Economie circulaire.
 Centre interuniversitaire de recherche sur le cycle de vie des produits, procédés et services.
- SAVITRI E., JULIASTUTI S. R., HANDARATRI A., & ROESYADI A. (2014). Degradation of chitosan by sonication in very-low-concentration acetic acid. Polymer degradation and stability, 110: 344-352.https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2014.09.010
- **SEGUINA B., & SOUSSANAB J. F. (2008).** Emissions de gaz a effet de serre et changement climatique : causes et conséquences observées pour l'agriculture et l'élevage1. Courrier de l'environnement de l'inra, (55) :79-91. (hal-01198631).
- SHIH P Y., LIAO Y T., TSENG Y K., DENG F S., & LIN C H. (2019). A Potential Antifungal Effect Of Chitosan Against Candida Albicans Is Mediated Via The Inhibition Of Saga Complex Component Expression And The Subsequent Alteration Of Cell Surface Integrity. Frontiers In Microbiology, 10, 602. Https://Doi.Org/10.3389/Fmicb.2019.00602
- 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

- TAHTAT D., BENAMER S., KHODJA A N., LATRECHE N., BENAMEUR M.,
 & MAHLOUS M. (2021). Etude des propriétés physico-chimiques et bactériostatiques de l'hydrogel pva/chitosane radioformé. Effet du poids moléculaire du chitosane.
 Algerian journal of natural products 9:2 (2021) 838-847.
- Tristan., T. (2015). Les Déchets Collecte. Traitement. Tri. Recyclage. France : Dunod : 59p
- TROELL M., HALLING C., NEORI A., CHOPIN T., BUSCHMANN A. H., KAUTSKY N., & YARISH C. (2003). Integrated mariculture: asking the right questions. Aquaculture.297(1-4).1-9.https://doi.org/10.1016/s0044-8486(03)00469-1
- TRUONG T. O., HAUSLER R., MONETTE F., & NIQUETTE P. (2007). Valorisation des résidus industriels de pêches pour la transformation de chitosane par technique hydrothermo-chimique. Revue des sciences de l'eau. 20 (3) :253-262.https://doi.org/10.7202/016170ar
- THANOU, M., VERHOEF, J. C., & JUNGINGER, H. E. (2001). Chitosan and its derivatives as intestinal absorption enhancers. Advanced drug delivery reviews, 50, s91-s101. Https://doi.org/10.1016/s0169-409x(01)00180-6
- VISSAC A., BOURGES A., GANDREAU D., ANGER R., & FONTAINE L. (2017). Argiles & biopolymères-les stabilisants naturels pour la construction en terre.
- VOLLENWEIDER R. A. (1970). Les bases scientifiques de l'eutrophisation des lacs et des eaux courantes sous l'aspect particulier du phsophore et de l'azote comme facteurs d'eutrophisation (doctoral dissertation, organisation de coopération et de développement economiques (ocde).
- WANG J., & ZHUANG S. (2017). Removal of various pollutants from water and wastewater by modified chitosan adsorbents. Critical reviews in environmental science and technology, 47(23), 2331-2386.https://doi.org/10.1080/10643389.2017.1421845
- WANG W., MENG Q., LI Q., LIU J., ZHOU M., JIN Z. ETZHAO K. (2020).
 Chitosan derivatives and their application in biomedicine. International journal of molecular sciences. 21(2): 487. https://Doi.Org/10.3390/Ijms21020487
- WLODARCZYK D. (2015). Elaboration contrôlée de membranes a base de chitosane pour le traitement de l'eau (doctoral dissertation, université Montpellier).
- WONDRACZEK H., KOTIAHO A., FARDIM P., & HEINZE T. (2011).
 Photoactive polysaccharides. Carbohydrate polymers, 83(3): 1048-1061.
 Https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.10.014

- XING, Y., LI X., XU Q., JIANG Y., YUN J., & LI W. (2010). Effects of chitosan-based coating and modified atmosphere packaging (map) on browning and shelf life of fresh-cut lotus root .https://doi.org/10.1016/j.ifset.2010.07.006
- YAO, H. T., & CHIANG, M. T. (2006). Effect of chitosan on plasma lipids, hepatic lipids, and fecal bile acid in hamsters. Journal of food and drug analysis, 14(2), 6. https://doi.org/10.38212/2224-6614.2485
- YIEN L., ZIN N. M., SARWAR A., & KATAS H. (2012). Antifungal activity of chitosan nanoparticles and correlation with their physical properties. International journal of biomaterials, 2012. Https://Doi.Org/10.1155/2012/632698
- YOUCEFI. (2009). Implantation et antagonisme de bifidobacterium et de l. Rhamnosus . Mag. Hyg. Sec. Agro. Alim.univ. Mosta.53.
- YOUCEFI, F., & RIAZI, A. (2015). Research article extraction, physicochemical characterization, study of heavy metal mn2 + adsorption and in vitro antibacterial activity of chitosan in shrimp shell waste from BENI SAF SEA, algeria against methicillin *staphylococcus aureus*.
- YOUCEFI F., & RIAZI A. (2012). Extraction, physicochemical characterization and in vitro antioxidative potential of chitosan in shrimp shell waste from Beni saf sea. Algeria international journal of science and research, 3(7): 955-959.
- YOUNES I., & RINAUDO M. (2015). Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. Marine drugs.13(3): 1133-1174.https://doi.org/10.3390/md13031133
- **ZADEH E. D. (2018).** Développement et caractérisation de films biodégradables à base d'acide polylactique et de chitosane (doctoral dissertation, université Laval).
- **ZEMMOURI H.** (2008). Utilisation du chitosane comme agent floculant dans le traitement des eaux (doctoral dissertation, ecole nationale polytechnique).

Webographie:

 Http://Sflyproteins.Fr/Un-Marche-Mondial-En-Forte-Croissance/#:~:Text=La%20production%20mondiale%20de%20cette,De%20Global% 20Industry%20Analysts%20Inc. Consulté Le 20 Juin 2023.

أعلخص

الهدف من العمل هو تثمين المنتجات المشتركة للنفايات العضوية (القشريات عشارية الارجل) المستمدة من أنشطة الصيد. يتم تحقيق ذلك باستخدام عملية كيميائية لاستخراج الشيتوزان من هذه النفايات ، لذلك نوضح خصائصه المضادة للبكتيريا في المختبر وفي الجسم الحي. تتضمن الدراسة تقييم سمية الشيتوزان على فئران ويستار من خلال أخذ أقسام نسيجية من الكبد والكلى والأمعاء ومعايرة الدم. في الوقت نفسه ، أجرينا أيضًا تجارب تهدف إلى إنتاج غشاء حيوي وتغليف الفاكهة والخضروات بالشيتوزان. تم تقييم النشاط المصاد للبكتيريا باستخدام طريقة التلامس المباشر مع الوسط الجيلوزي ، وأظهرت النتائج عدم انتشار سلالات المكورات العنقوبية الذهبية والإشريكية القولونية على التوالي تم العثور على نفس التركيز الادنى القاتل للبكتيريا ، تظهر النتائج قدرة الشيتوزان في إطالة العمر الافتراضي للطماطم و الفراولة وقدرته على تشكيل أغشية ناعمة وجذابة. أجريت الدراسة في الجسم الحي على النشاط المصاد للبكتيري على 3 مجموعات من 5 فنران ومجموعة الشواهد ومجموعة مصابة بالمكورات العنقوبية الذهبية ومجموعة مصابة ومعالجة بالشيتوزان. أظهرت نتائج العد انخفاضًا في الحمل البكتيري مع تحسن في تحاليل الدم. أجريت دراسة سمية الشيتوزان على 5 إناث من فنران ويستار ، والتي أعطبت جرعات تدريجية بواسطة التزقيم من 500 ، 1000 ، 1000 ملغم / كفم / يوم لمدة 4 أسابيع على التوالي. لا توجد فروق معنوية في السلوك أو المظهر الخارجي ووزن الجسم واستهلاك الغذاء بين الجرذان الشواهد والفتران المعالجة، مع عدم وجود فروق معنوية في معاملات الدم والنسيج

الكلمات المفتاحية: الشيتوزان ، النفايات ، مضاد بكتيري ، التلوث والسمية

Abstract

The aim of the work is to exploit the co-products of organic waste (decapod crustaceans) from fishing activities. This is achieved by using a chemical process to extract chitosan from this waste, demonstrating its antibacterial properties both in vitro and in vivo. The study involves assessing the toxicity of chitosan on Wistar rats by taking histological sections of the liver, kidney and intestine and analysing haematological parameters. At the same time, we also carried out trials aimed at producing a biofilm and coating fruit and vegetables with chitosan. Antibacterial activity was assessed using the direct contact method with an agar medium, and the results showed an absence of proliferation of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* strains, with a minimum inhibitory concentration (MIC) of 0.2 and 0.4% for *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* respectively. The same concentrations were found for MBC. The results show the power of chitosan to extend the shelf life of tomatoes and strawberries, and its ability to form smooth, attractive films. The in vivo study on antibacterial activity was carried out on 3 batches of 5 rats, a control batch, a batch infected with *staphylococcus aureus* and a batch infected and treated with chitosan. The enumeration results showed a reduction in the bacterial load, with an improvement in haematological parameters. The chitosan toxicity study was carried out on 5 female Wistar rats, which were given progressive doses of 500, 1000, 1500 and 2000 mg/kg/day by gavage for 4 weeks respectively. There were no significant differences in behaviour or external appearance, body weight and food consumption between control and treated rats, with no significant differences in haematological and histopathological parameters.

Key words: Chitosan, Waste, antibacterial effect, Pollution and Toxicity.

Résumé

L'objectif du travail est de valoriser les coproduits des déchets organiques (crustacés décapodes) provenant de l'activité de pêche. Cela est réalisé en utilisant un procédé chimique pour extraire le chitosane de ces déchets, en démontrant ses propriétés antibactériennes à la fois in vitro et in vivo. L'étude comporte, l'évaluation de la toxicité du chitosane sur des rats Wistar en réalisant des coupes histologiques sur le foie, rein et intestin et en analysant des paramètres hématologiques. En parallèle, nous avons également effectué des essais visant à fabriquer un biofilm et à enrober des fruits et des légumes par le chitosane. L'activité antibactérienne a été évaluée en utilisant la méthode de contact direct avec un milieu gélosé, les résultats ont montré une absence de prolifération des souches de *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 0,2 et 0,4% pour *Staphylococcus aureus* et *Escherichia* coli respectivement, Les mêmes concentrations ont été trouvés pour la CMB. Les résultats montrent le pouvoir du chitosane à prolonger la durée de vie des tomates et des fraises, et sa capacité de former des films lisse et de belle apparence. L'étude in vivo sur l'activité antibactérienne a porté sur 3 lots des 5 rats, un lot témoin, un lot infecté par *staphylococcus aureus* et un lot infecté et traité par le chitosane, les résultats du dénombrement montrent une diminution de la charge bactérienne, avec une amélioration dans les paramètres hématologiques il a été constaté que le chitosane favorise la récupération des tissus et réduction des inflammations. L'éftude to toxicité du chitosane a été réalisée sur 5 rats Wistar de sexe féminin, qui ont reçu par gavage des doses progressives 500, 1000,1500, 2000 mg/kg/par jour pendant 4 semaines respectivement. Il n'y a pas eu de différences significatives dans le comportement ou l'apparence extérieure, le poids corporel et la consommation de nourriture entre les rats témoins et les rats traités, avec aucune différe

Mots clés: Chitosane, Les déchets, pouvoir antibactérien, Pollution et Toxicité.