



UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA

Faculté Des Sciences De La Nature Et De La Vie

Département Des Sciences Biologiques

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER ACADEMIQUE

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Hydrobiologie marine et continentale

Spécialité : Aquaculture

Présenté par :

M^{elle} BENROUAG HADJER DJIHANE

M^{elle} GUENDAFA HANA

Thème

EXTRACTION DES POLYSSACHARIDES À PARTIR DES SOUS PRODUITS AQUACOLES

Soutenu publiquement

Le :01 juillet 2018

Devant le jury :

Président	M ^{me} HIDOUCI .S	M.C.B Université	U.K.M Ouargla
Examineur	M ^r GUEZZI . R	M.A.B Université	U.K.M Ouargla
Encadreur	M ^r BENSLEM .S	M.C.B Université	U.K.M Ouargla

Année universitaire : 2017/2018

Dédicace :

À nos chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de nos études;

À nos chères sœurs pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral;

À nos chers frères pour leur appui et leur encouragement;

À toutes nos familles pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire;

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infailible;

Merci d'être toujours là pour nous.



Remerciements

*Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et
miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience
d'accomplir ce Modeste travail.*

*En second lieu, nous tenons à remercier notre encadreur Mr
:bensalem soufien, son précieux conseil et son aide durant
toute la période du travail.*

*Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury
pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant
d'examiner notre travail Et de s'enrichir par leurs
propositions.*

*Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes
qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

Liste des figures

Numéro de Fig	Page
Fig 1. Structure chimique de chitine.....	7
Fig 2. Principales étapes d'extraction de la chitine	9
Fig 3. Structure chimique de chitosane	11
Fig 4. Les matériels utilisés	20
Fig 5. Tilapia de Nil (<i>Oreochromis niloticus</i>)	21
Fig 6. le protocole expérimental de l'extraction de la chitine et du chitosane	23
Fig 7. Spectres IRTF des produits chitineux obtenu par les écailles de Tilapia (0,5%,1%,2%)	28
Fig 8. Diffraction aux rayons X des produits chitineux obtenu par les écailles de Tilapia (a= 0,5%, b= 1%, c= 2%)	29
Fig 9. Observation des produits chitineux obtenus par les écailles de Tilapia (a= 0,5%, b = 1%, c = 2%) sous microscope électronique à balayage.....	31

Numéro de Tab	Page
Tableau 1. La typologie des sous-produits de la filière pêche .	06
Tableau 2. Les principales ressources de chitine .	09
Tableau 3. Quelques applications du chitosane dans différents domaines d'exploitation	17

Liste de figures

Numéro de Fig	Page
Fig 1: Spectromètre IR-TF Nicolet iS10	III
Fig 2 :Appareil type X'PertPhilipsTM Pan PANalytical	V
Fig 3 : Analyseur thermique simultané de type TG-ATD 92-16 de chez Setaram	VI
Fig 4 : Microscopie électronique à balayage	VI

Introduction	2
I. Sous-produits aquacoles.....	5
II. Chitine : Isolation, définition et propriétés.....	7
II.1. Historique	7
II.2. Définition et structure de la chitine.....	7
II.3. Sources de chitine	7
II.4- Procédé d'extraction de la chitine	9
II.5. Propriétés.....	11
III. Chitosane : Isolation, définition et propriétés	11
III.1. Historique	11
III.2. Définition et structure de chitosane	11
III.3. Production de chitosane par désacétylation basique.....	12
III.4. Caractérisation du chitosane.....	12
III.6.2. En cosmétique	17
III.6.3. En agriculture	17
I. Matériels et Méthodes.....	20
I.1. Les matériels utilisés.....	20
I.2. Produits chimiques.....	20
II. Procédés de l'extraction (voir annexe n°2)	21
II.1.2. Déminéralisation	21
II.1.3. Déprotinisation.....	22
II.1.4. Blanchissement	22
II.1.5. Test de solubilité à l'acide acétique	22
II.1.6. Désacétylation.....	22
III. Analyses et caractérisation des produits chitineux	24
III.1. Spectroscopie infrarouge.....	24
III.2. Diffraction de rayons X	24
III.3. Analyse thermique	25
III.4. Morphologie et microstructure par Microscopie Electronique à Balayage	25
Résultats et Discussions.....	26
I. Résultats:	27

Référence bibliographique.....	Error! Bookmark not defined.
Annexe.....	28



Introduction

Introduction

La chitine ou poly (β - (1 \rightarrow 4) -N-acétyl-D-glucosamine) est un polysaccharide naturel d'importance majeure, identifié pour la première fois en 1884. Ce biopolymère est synthétisé par un nombre énorme d'organismes vivants (**Rinaudo, 2006**) et il appartient aux polymères naturels les plus abondants, après la cellulose. A l'état natif, la chitine se présente sous forme de microfibrilles cristallines ordonnées qui forment des composants structuraux dans l'exosquelette des arthropodes ou dans les parois cellulaires des champignons et des levures. Jusqu'à présent, les principales sources commerciales de chitine sont les coquilles de crabes et de crevettes. Dans le traitement industriel, la chitine est extraite par traitement acide pour dissoudre le carbonate de calcium suivi d'une solution alcaline pour dissoudre les protéines. De plus, une étape de décoloration est souvent ajoutée pour éliminer les pigments et obtenir une chitine pure incolore. Tous ces traitements doivent être adaptés à la source de chitine, en raison des différences d'ultrastructure du matériau initial (l'extraction et les prétraitements de la chitine seront décrits plus loin), pour produire d'abord une chitine de haute qualité puis du chitosane (après désacétylation partielle). La chitine est infusible et peu soluble pendant la transformation en différentes conformations. La question de sa solubilité est un problème majeur dans le développement du traitement et de l'utilisation de la chitine ainsi que dans sa caractérisation.

La chitine a plus d'applications lors de la transformation en chitosane (par désacétylation partielle dans des conditions alcalines) (**Rinaudo, 2008; Younes and Rinaudo, 2015**). Le chitosane est un copolymère statistique avec une fraction molaire DA (degré d'acétylation) de β - (1 \rightarrow 4) -N-acétyl-D-glucosamine et une fraction (1-DA) de β - (1 \rightarrow 4) -D-glucosamine. Le degré d'acétylation du chitosane est caractérisé par la fraction molaire des unités N-acétylées (DA) ou en pourcentage d'acétylation (DA%).

Notre travail s'inscrit dans cette problématique, elle porte sur l'extraction des produits chitineux à partir des sous-produits aquacoles, et plus précisément les écailles de Tilapia, une espèce très abondante, avec une large répartition. Nous avons réalisé un travail dans un laboratoire ; afin de définir l'extraction des polysaccharides a pour réaliser cette expièrent, précède où faire l'extraction de ces produits. Ce travail s'inscrit dans le cadre général de valorisation de sous-produits aquacoles. Il a pour princip al objectif l'obtention d'un produit chitineux. Cette étude se divise en trois parties distinctes :

- La première partie : dans cette partie nous ferons une étude bibliographique tous qui est la chitine et le chitosane : leurs origines, leurs compositions chimiques, les

méthodes de l'extraction, les propriétés chimiques et physiques, les domaines des utilisations...ect

➤ La deuxième partie : expérimental est consacré à la mise au point pour les matières premières utilisées dans l'expérience. Cette partie la méthode de l'extraction de les produits chitineux qui sont présents sous forme des complexes chitine/protéines/minéraux à partir des sous-produits de la Tilapia par la voie chimique, ces produits est habituellement extraite en deux étapes d'extraction chimique : déminéralisation par hydrolyse acide, pour éliminer les minéraux ; puis déprotéinisation par hydrolyse basique, pour éliminer les protéines. L'extraction des produits chitineux à partir de sous-produits de pêche est actuellement réalisée à l'échelle industrielle par « extraction chimique ». L'extraction de la chitine à partir d'insectes n'est pas encore très développée mais a déjà fait l'objet d'études, essentiellement par voie chimique (S ajomsang W et Gonil P, 2010 ; Paulino et al, 2006 ; Majtan Jet al, 2007) Une troisième étape facultative de blanchiment, par exemple à l'aide d'hypochlorite de sodium, est souvent mise en œuvre pour éliminer les pigments résiduels. Des opérations de lavage, le plus souvent à l'eau, sont nécessaires entre ces différentes étapes. Le produit peut ensuite être facilement désacétylé, par exemple à l'aide d'hydroxyde de sodium, pour conduire à du chitosane, également appelé « chitosane ». A la fin de cette partie nous allons définir les méthodes d'analyse utilisées pour caractériser la nature du produit extrait.

➤ La troisième partie est concernant le résultat de la pratiquassions de étapes de l'extraction par voies chimique qui nous aides de connaître le taux des minéraux. Les protéines et le produit chitineux présentent dans nos sous-produits. Ensuite on va faire quelques analyses pour caractériser de produit obtenu au but de déterminer leur structure chimique par la Spectroscopie infra-rouge à transformée de fourrier (IRTF), les phases cristallisées avec la Diffraction rayons X (DRX), et leur morphologie à l'aide de Microscope électronique à balayage (MEB) Microscope électronique à balayage (MEB).

➤ La dernière partie : c'est une conclusion où nous parlons sur les résultats finaux et Les problèmes que nous avons pendant notre travail. Les positives et les négatives d'utiliser le type d'extraction chimiques.



Partie bibliographique

I. Sous-produits aquacoles

La diversité chimique et biologique du milieu aquatique est en fait une extraordinaire source de composés à haute valeur ajoutée utilisables dans de nombreuses applications. Les minéraux, les lipides, les acides aminés, les caroténoïdes, les polysaccharides et les protéines provenant de sources aquatiques ont des caractéristiques uniques, leur plus forte concentration se trouve souvent dans des parties fréquemment rejetées des organismes aquatiques : têtes, viscères, peau, sang ainsi que dans les carapaces ou coquilles des produits de la pêche. La valorisation de ces sous-produits permettrait, en plus du respect de l'environnement, de maximiser le profit des entreprises. Elle consiste à les transformer de façon à ce qu'ils deviennent des matières premières ou des matières intermédiaires pour la production d'autres produits. Ces produits de la pêche sont maintenant considérés comme des matières premières destinées à la production de nouvelles substances des matières premières utilisables en nutrition animale, en cosmétique et en santé humaine. Certains des composés extractibles ont des applications potentielles en santé humaine mais aussi dans d'autres domaines : nutrition, agent antimicrobien, purification de l'eau etc. (Silla. A ,2015).

Ces substances bioactives peuvent être issues de manipulation biotechnologique de certains sous-produits aquatiques. Ces substances bioactives peuvent être issues de manipulation biotechnologique de certains sous-produits aquatiques. Pour rendre ces produits bioactifs utilisables, ils doivent être extraits par la voie chimique par l'emploi de grandes quantités de réactifs (principalement l'acide chlorhydrique, l'hydroxyde de sodium et des agents de blanchiment), ou bien par la voie enzymatique par l'utilisation des enzymes comme la protéase pour l'étape de déprotinisation et le chitosaneylase ou chitinease pour l'étape de désacétylation.

Par ailleurs, la médecine vétérinaire, la pharmacie humaine, la cosmétologie, l'alimentaire ainsi que la diététique sont les domaines d'utilisation sous-produits de poissons. Dans le tableau n°1 on voit la méthode d'obtention un sous-produit.

Tableau 1. La typologie des sous-produits de la filière pêche

Étapes d'obtention du sous-produit	Type de sous-produit	Sous-produit
• Eviscération	• Viscères	<ul style="list-style-type: none"> • Appareil digestif (estomac, glande digestive, intestin, etc.) • Cœur • Foie • Œufs (gonade femelle) • Laitance (gonade mâle) • Vessie natatoire • Encre de céphalopode
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Coquille Interne(mollusque céphalopode) 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Os de seiche (calcaire et chitineux), • Plume de calmar (chitineux) 	
• Étêtage	• Tête	<ul style="list-style-type: none"> • Branchies • Collet • Joues • Langue et/ou organe palatin Os & cartilages • Tête/tentacules • Yeux
• Carapace de crustacés	• Céphalothorax	
• Filetage	• Arêtes	<ul style="list-style-type: none"> • Arêtes • Osseuses • Cartilages • Chair adhérente aux • Arêtes • Nageoires dorsales et caudales
• Chutes de parage de filets	<ul style="list-style-type: none"> • Ligaments • Nageoires • Ventrales et pectorales • Ventrèches 	
• Pelage	• Peau	<ul style="list-style-type: none"> • Derme • Écailles • Gras & chair sous • Cutanée • Mucus
➤ Décorticage	➤ Carapace de crustacés	• Carapace
➤ Écorçage	<ul style="list-style-type: none"> • Coquille externe (mollusques) • Bivalves et gastéropodes) 	• Coquille calcaire

II. Chitine : Isolation, définition et propriétés

II.1. Historique

La molécule de chitine fut décrite pour la première fois en 1811 par Henri Braconot. La chitine est le deuxième biopolymère naturel le plus abondant dans la nature après la cellulose (**Shahidi et al, 1999 ; Weber, 2000 ; Roland, Bumper, 2001**) Sa biosynthèse annuelle d'origine marine est estimée à plus de 109 tonnes (**Felt, 1999**). C'est un biopolymère biodégradable et biorésorbable, deux propriétés primordiales à notre époque où la protection de l'environnement joue un rôle important. De plus, la chitine est non toxique et biocompatible (**Campana, Signi ni, 2001**). Largement présente au sein du règne animal, elle constitue le squelette polysaccharidique de plusieurs groupes : arthropodes, annélides, mollusques et cœlentérés (**Kerkut, Gilbert, 1985**). Ainsi, le traitement annuel des rejets de conserveries de crustacés fournit environ 37300 tonnes de chitine par le monde.

Ce polymère (chitine) est un des plus abondants sur terre, à la fois dans le milieu terrestre et marin. Il est traditionnellement extrait à partir des carapaces des crustacés depuis les années 70, pour des domaines d'application variés, tels que la pharmaceutique, la cosmétique, la diététique et le traitement des eaux.

II.2. Définition et structure de la chitine

A l'état solide, la chitine se trouve en trois formes polymorphiques α , β , γ qui diffèrent dans leur degré d'hydratation, de la taille de la maille, et du nombre de chaînes de chitines par maille (**Einbau, 2007**).

La chitine est un polymère linéaire qui a une structure similaire à la cellulose, mais c'est un amino-polysaccharide ayant des groupements acétamide en position C-2 à la place des hydroxyles. Sa structure chimique est un enchaînement d'unité monomère : N-acétyl- β -D-glucopyranose reliées par une liaison glycosurique β -(1-4) (Figure.1).

II.3. Sources de chitine

La chitine est le polysaccharide naturel, facile à obtenir et renouvelable. Dans le règne animal, la chitine est un élément structurel important du tégument de certains invertébrés. Elle est présente principalement dans les coquilles de mollusques, dans les cuticules des insectes et dans la carapace des crustacés (**Crini et al, 2009**).

Dans le règne végétal, la chitine se trouve dans la paroi de la plupart des champignons et de certaines algues chlorophycées. En plus de son rôle dans le maintien de la rigidité de la cellule, elle contribue au contrôle de la pression osmotique la chitine est présente, aussi, dans certaines levures et bactéries. Bien que les sources potentielles de chitine soient très nombreuses (Tableau.2), elle est essentiellement produite aujourd'hui à partir des carapaces de crevette, (Shahidi et Abuzaytoun, 2005).

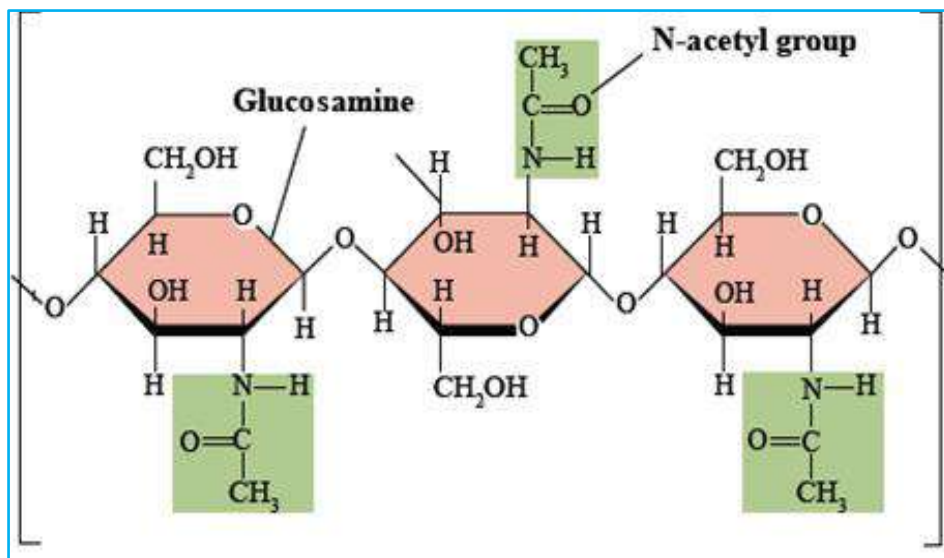


Figure 1. Structure chimique de chitine

Tab 2. Les principales ressources de chitine :

Sources	Sites de presence	Tenure en chitine (en %)
Arthropodes : ➤ Crustacés (crevette) ➤ Insectes ➤ Arachides	➤ Exosquelettes, ➤ cuticules ➤ membranes	2-72
	➤	
Mollusque : ➤ Seiche ➤ Pieuvres /calmars	➤ dents, ➤ stomata ➤ Coquille ➤ plums	6-40
➤ Polyplacophores	➤ Tube	33
➤ Cnidaires	➤ Capsules d'œufs, ➤ membrane	3-30
Annélides: ➤ Sangsue ➤ Lombric	➤ Soies	0.2-38
➤ Brachiopodes	➤ Cuticules, ➤ coquilles	4-29
➤ Champignons	➤ Paroi cellulaire, ➤ tige, ➤ spore	/ / /
➤ Algues	➤ Paroi cellulaire	Faible

II.4- Procédé d'extraction de la chitine

La faible teneur de la chitine dans les organismes tels que les insectes et les champignons, laisse à suggérer que les crustacés sont les principales sources fournissant cette matière première (chitine) (**Blakwell, 1973**).

De nombreuses méthodes ont été développées afin de préparer la chitine à partir des carapaces de ces crustacés. Parmi ces méthodes, les méthodes chimiques sont les plus utilisées. L'extraction chimique consiste en déminéralisation acide et une déprotéinisation basique. Le protocole adopté est inspiré de l'étude de (**Tolaimate et coll.,2003**). De manière générale, elles consistent à éliminer les protéines (déprotéinisation), les éléments minéraux (déminéralisation) et la couleur (décoloration et blanchiment) (**Kim, 2011**).

II.4.1- Déminéralisation

Elle est généralement, réalisée par un traitement acide sous agitation pour solubiliser le

carbonate de calcium et le chlorure de calcium. Les acides les plus fréquemment utilisés sont l'acide chlorhydrique et l'acide formique, à des concentrations variables de 1 à 10 mol/L. La durée du traitement acide est de l'ordre de 1 à 48 heures à la température ambiante (No et al., 1989).

II.4.2- Déprotinisation

A l'état naturel, la chitine se présente en association avec les protéines (chitineo-protéines). Ces protéines sont éliminées par un traitement basique en utilisant des solutions à base de NaOH, Na₂CO₃, NaHCO₃, KOH, K₂CO, Ca (OH)₂ ou NaPO₄, à des concentrations variables de 0.1 à 5 mol/L. la solution d'hydroxyde de sodium (10% massique) est la plus souvent utilisée pour solubiliser les protéines. La durée du traitement basique est de l'ordre de 0.5 à 72 heures à des températures (65 à 100°C).

II.4.3 Blanchissement

Pour certaines applications industrielles (pharmaceutiques, cosmétiques, agroalimentaires..), la chitine obtenue à partir des ressources de crustacés doit être décolorée après les traitements acide et alcalin (No et al, 1989) pour éliminer les pigments résiduels.

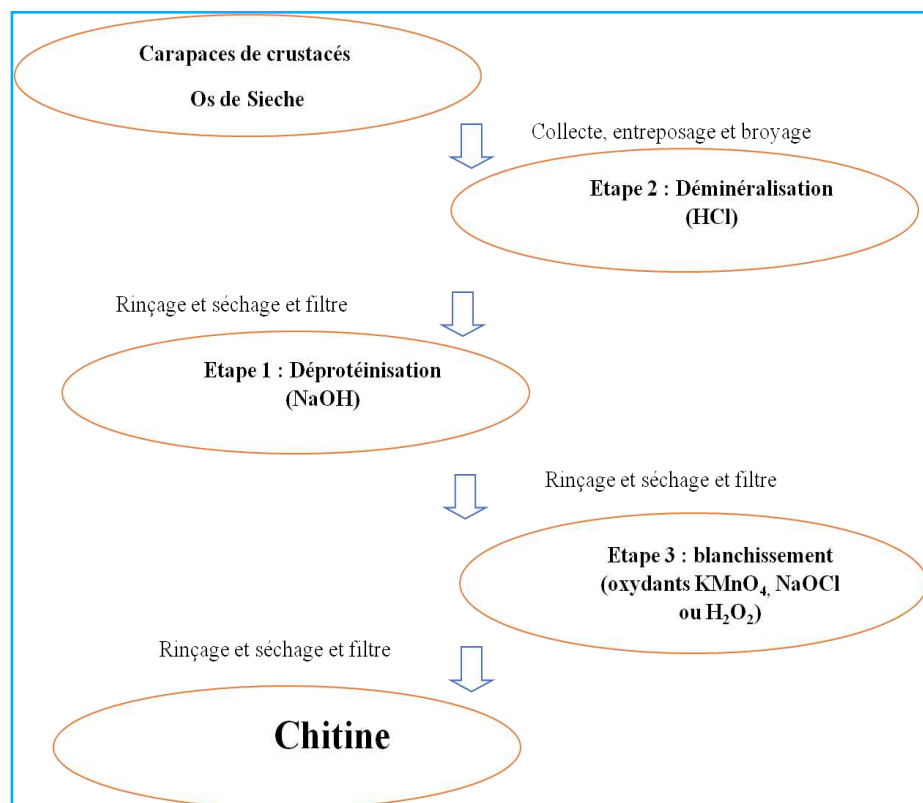


Figure 2. Principales étapes d'extraction de la chitine

II.5. Propriétés

La chitine est un agent remarquable de chélation et biodégradable grâce aux enzymes, la chitinease et la chitosanease qui scindent ce biopolymère en oligopolymères pris en charge par le métabolisme. La chitine n'est soluble que dans des solvants peu communs : le 2-héxafluoropropanol et dans des mélanges tels que diméthylacétamide/chlorure de lithium ou l'acide trichloracétique ce qui limite son utilisation d'où sa valorisation et sa transformation en chitosane et autres dérivés.

III. Chitosane : Isolation, définition et propriétés

III.1. Historique

La chitine et son 1^{er} dérivé, le chitosane sont les polymères naturels les plus abondants au monde (**Kurita, 2006**), après la cellulose. Ils suscitent un intérêt de plus en plus grand. Ces polysaccharides (ou biopolymères) ont démontré d'excellentes propriétés intrinsèques, physico-chimiques et biologiques. Ils sont exploités dans de nombreux secteurs industriels ou de recherche tels que, la pharmacie, le biomédical, la cosmétologie, l'agriculture, l'agroalimentaire, l'environnement, le textile et les industries du papier (**Renault et al., 2009**).

III.2. Définition et structure de chitosane

Le chitosane est un enchainement de monomères β -D-glucosamine reliés par une liaison glycosidique β (1-4) (Figure 3). Il est obtenu par désacétylation partielle ou totale et peut être décrit comme étant un copolymère composé d'unités D-glucosamine et N-acétyl-glucosamine (**Seng, 1988**).

Dans la nature, le chitosane est rare. Il est présent uniquement dans les parois cellulaires de certains micro-organismes fongiques (champignons, zygomycètes) (**Huang et al, 2002**) et chez certains insectes comme dans la paroi abdominale des reines (**Seng, 1988**). Ce qui explique qu'il n'y a pas de sources primaires exploitables. Sa production sera systématiquement assurée à partir de transformation de la chitine (**Crini et al, 2009**).

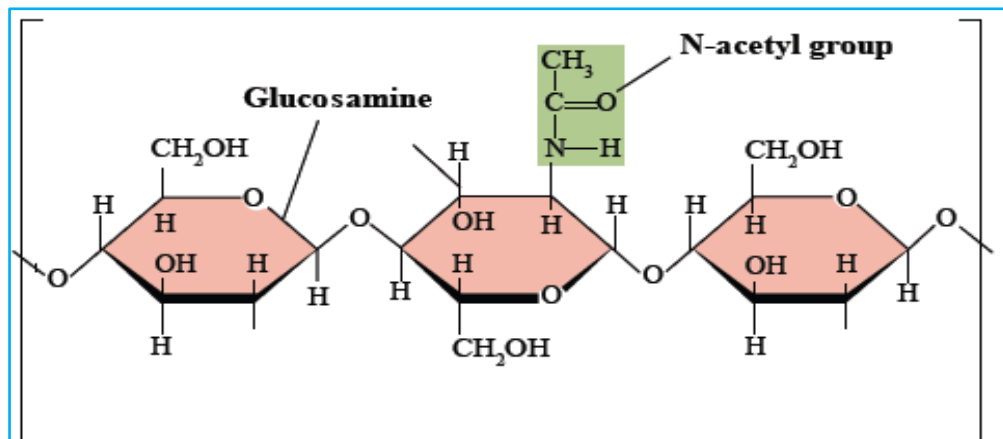


Figure 3. Structure chimique de chitosane

III.3. Production de chitosane par désacétylation basique

L'extraction de la chitine est aujourd'hui facilement réalisable, l'étape la plus délicate reste la désacétylation qui nécessite de substituer suffisamment les groupements acétylés pour aboutir au chitosane, ce qui peut entraîner une réduction excessive de la longueur de chaîne du polymère. En jouant sur la durée du traitement alcalin et sur l'élévation de la température, il est donc possible d'obtenir différents chitosane à partir d'une même chitine (Crini et al, 2009). Un degré d'acétylation (DA) inférieur à 10% est rarement atteint par un procédé simple (No et Myers, 1995).

Le rendement de désacétylation et la qualité du chitosane varient selon l'origine de la matière première utilisée (crevettes, crabes, calamars, ...) (Shahidi et Abuzaytoun, 2005) et de la procédure d'extraction (la température, la durée, la concentration d'alcalin, les traitements préalables pour l'obtention de la chitine, l'atmosphère (air ou azote), la quantité de chitine par rapport à la solution alcaline, la densité de la chitine et la taille des particules) (Kurita, 2006). Des conditions trop drastiques conduisent à une dégradation physique des biopolymères (avec une chute importante de la masse moléculaire et/ou une oxydation des extrémités réductrices des chaînes macromoléculaires), alors que des conditions trop douces ne permettent pas une désacétylation suffisante. Ceci permet d'expliquer parfois la difficulté d'obtenir de manière reproductible des produits de composition prédéterminée.

III.4. Caractérisation du chitosane

La principale différence entre la chitine et le chitosane est le degré de désacétylation (DDA) ou le degré d'acétylation (DA). Ce dernier est de 80% pour la chitine et d'environ 30 % pour le chitosane (Kurita, 2006).

III.4.1. Degré de désacétylation (DDA)

Le degré d'acétylation (DA) est défini comme étant la fraction molaire des unités acétylées (unité acétyl glucosamine). Le degré de désacétylation ($DDA=1-DA$) représente la proportion d'unités amine-D-glucosamine par rapport au nombre total d'unités glycosidiques (**Rinaudo, 2006**).

Le degré de désacétylation est un paramètre structural qui influe sur les propriétés physico-chimiques telles que la masse moléculaire, la viscosité, la solubilité, la charge globale et la réactivité, les propriétés mécaniques comme l'élongation à la rupture, la résistance à la traction et les propriétés barrière (**Abdou, 2008**). Il influe également sur les propriétés biologiques (**Chatelet et al, 2001**) telle que la biocompatibilité, la biodégradabilité et l'activité biostimulante et anticholestémiant. L'analyse des différents types de chitosane utilisés est donc une étape indispensable avant l'évaluation de leurs capacités.

Ce paramètre peut être obtenu soit par titration volumétrique soit par des méthodes spectroscopiques comme l'infrarouge (IR), ou l'ultraviolet. D'autres analyses sont aussi utilisées (**Mékhahlia, 2007**) comme :

- La spectroscopie à résonance magnétique (RMN) du ^1H .
- La spectroscopie à résonance magnétique (RMN) du ^{13}C .
- L'hydrolyse acide.
- La chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC).
- L'analyse élémentaire.
- La spectrophotométrie.
- Le titrage colloïdal.

La méthode la plus fréquemment utilisée pour l'estimation du degré de désacétylation du chitosane, est la spectroscopie IR proposée pour la première fois par (**Moore et Roberts en 1980**).

III.4.2. Viscosité

Pour caractériser le comportement viscosimétrique d'une solution de polymère, il existe différentes méthodes. La plus employée consiste à déterminer la viscosité intrinsèque du polymère qui nécessite de connaître les paramètres K et a de la relation de (**Mark-Houwink – Sakurada**) (**Rinaudo et al, 1999**).

Certains problèmes peuvent apparaître lors de la mesure de la viscosité du chitosane. En effet, la présence possible de micro-gels ou d'agrégats, favorisés par les liaisons hydrogènes et hydrophobe, l'influence du vieillissement des solutions, et des effets électrostatiques (dus aux charges des groupes amines protonés) induisent des erreurs.

La viscosité du chitosane dépend de (**Kurita, 2001**) :

- Son degré d'acétylation : plus il est désacétylé, plus il y a de groupements amines libres, plus le chitosane est soluble et plus sa viscosité est importante
- Sa concentration : la viscosité augmente en fonction de sa concentration
- La température ;
- Le pH : plus il est bas, plus la viscosité est forte.

Les poids moléculaires de la chitine et du chitosane sont supérieurs à plusieurs millions de Dalton (entre $1,03 \cdot 10^6$ et $2,5 \cdot 10^6$ Da) (**Fell et al., 1999**). La réaction de désacétylation est responsable de la réduction du poids moléculaire du chitosane entre $1 \cdot 10^5$ et $6 \cdot 10^5$ Da (**Kurita, 2001**).

III.4.3. Poids moléculaires

Le poids moléculaire d'un agent polymérique coagulant est considéré comme étant une des caractéristiques les plus importantes affectant la fonctionnalité du polymère en question. Parmi les différentes méthodes décrites dans la littérature, la chromatographie par perméation de gel est la plus couramment utilisée pour la détermination du poids moléculaire du chitosane ainsi que de sa polydispersité (**Mikahlia, 2007**). Par ailleurs, le viscosimètre demeure une méthode simple et rapide (**Fell et al., 1999**).

A l'instar de sa composition, le poids moléculaire du chitosane varie avec la source du matériel brut ainsi que de sa méthode de préparation. En général, les hautes températures, l'oxygène dissout, et les conditions drastiques peuvent provoquer la dégradation du chitosane induisant la diminution de son poids moléculaire (**Fell et al., 1999**).

III.5. Principales propriétés du chitosane

III.5.1. Cristallinité

Le chitosane est une substance semi-cristalline. Il se cristallise dans le système orthorhombique. Deux types de chitosane sont connus : le chitosane I (faible DD, sous forme de sel) qui est plus désordonné que le chitosane II (fort DD, forme amine libre) (**kurita, 2006 ; Crini et al, 2009**).

III.5.2. Solubilité

Le chitosane est presque insoluble dans l'eau et dans les solutions alcalines aussi bien concentrées que diluées. Cependant, il est soluble dans plusieurs solvants organiques, aqueux et légèrement acides. L'acide organique le plus couramment employé pour la préparation d'une solution de chitosane, est l'acide acétique dilué. En général, le chitosane est parfaitement soluble à un pH d'environ 4 (**Cataldo, et al, 2009**). Les groupes aminés du chitosane sont protonés à partir de pH = 3, et le polymère positivement chargé, devient soluble (**Cataldo et al. 2009**).

Le chitosane est soluble dans les mélanges aqueux contenant 50 % à 60 % de méthanol ou 40 % d'acétone. Les propriétés intrinsèques du chitosane influent sur sa solubilité en milieu aqueux, son hydratation, sa structure tridimensionnelle, sa viscosité, son aptitude à participer dans des interactions ioniques, sa capacité à lier des molécules organiques et des sels de métaux lourds et autres, et sa facilité à subir des modifications chimiques qui permettent de créer une multitude de dérivés aux propriétés physico-chimiques et biologiques variées (**Kurita, 2006**).

III.5.3. Polyélectrolyte en milieu acide

Le chitosane est considéré comme une polyamine. La présence de la fonction amine primaire en position 2 du noyau glucopyranose, lui confère des propriétés physico-chimiques remarquables. Ces propriétés dépendent fortement du pH du milieu et de la présence ou non du sel. En absence de sel, le pK₀ de la fonction amine est de 6,5. Ce qui signifie qu'en dessous de ce pH, le chitosane devient un polycationique, ce qui le distingue des autres polymères naturels qui sont généralement anioniques (**Crini et al., 2009**); c'est un avantage que possède le chitosane contrairement à la majorité des polysaccharides. Il peut alors s'associer sélectivement avec des espèces anioniques et être ainsi un excellent agent de floculation et former des complexes polyanion - polycation.

Au-delà d'un pH de 6,5 environ, le chitosane précipite. Il perd ses charges positives, et le doublet électronique de l'azote se libère. Ces doublets libres et la présence de nombreux atomes d'oxygène dans le chitosane lui permettent de se comporter comme un excellent complexant des métaux lourds en particulier. La chaîne macromoléculaire ne comporte plus de groupements ionisés. Le polymère possède alors de bonnes propriétés chélatantes dues, en particulier, au doublet électronique libre de l'atome d'azote. Par chauffage, le chitosane se décompose sans fondre à partir de 185 °C (**Onesippe, 2005**).

III.5.4. Propriétés physico-chimiques

Le chitosane est parfaitement stable (**Kim, 2011**) en phase solide. Il est en équilibre avec la pression atmosphérique normale et sa teneur en humidité se situe entre 10 et 14 %. C'est un matériau non-poreux ayant des formes physiquement modifiées (**Crini et al. 2009**). Grâce à sa structure chimique particulière, le chitosane est apte à interagir avec d'autres substances chimiques (ions, molécules et macromolécules).

- Ce comportement est lié :

1. À son caractère hydrophile dû à la présence des groupes hydroxydes des unités glucoses qui permettent de former des ponts hydrogènes et des liaisons inter ou intramoléculaires.
2. À la présence de groupements hydroxyle, acétamide et amine dotés d'une grande réactivité.
3. Et à la structure flexible des chaînes de polymères (fonction du pH et de la température).

Le chitosane possède également un important potentiel de rétention d'eau, de chélation d'ions, de complication et d'adsorption de molécules ou de polymères (**Kurita, 2006**).

III.5.5. Propriétés biologiques

Le chitosane peut être un substitut des milieux biologiques, du fait que les liaisons glycosidiques et les résidus N-acétyl-glucosamine se retrouvent dans la structures des matrices extracellulaires de la plupart des tissus vivants. Le chitosane est non toxiques et biodégradables. Il est biocompatible et biorésorbable. Il possède un caractère anti- thermogénique, hémostatique et anti tumorale (**Crini et al. 2009**). Il ne présente, par contre, aucun comportement antigénique. Le chitosane est également antifongique, antibactérien et un très bon cicatrisant (**Khoshgozaran-Abras et al. 2012**).

III.6 Application du chitosane

La chitine et le chitosane possèdent de nombreuses propriétés physico-chimiques et biologiques intéressantes (biocompatibilité, bioactivité, et biodégradabilité) qui ont permis d'entrevoir de nombreuses applications potentielles. Le chitosane a suscité un intérêt plus vif que la chitine. Les premières applications ont été développées en pharmacologie, cosmétologie et surtout en médecine.

III.6.1. Dans le domaine médical

De par sa biocompatibilité avec les tissus du corps humain, le chitosane a démontré son efficacité pour toute forme de pansements : peau artificielle, pansements cornéens, fil de suture... En chirurgie dentaire, le chitosane est utilisé dans les implants ou dans la cicatrisation

des gencives. Kim et coll ont montré l'application du chitosane et de ses dérivés dans les organes artificiels comme le foie, les nerfs, les os, la peau, les cartilages, les vaisseaux sanguins, ... etc.

En outre, c'est un bon support pour le transport et le relargage lent de principes actifs médicamenteux pour des applications à la santé humaine et animale. Senel et McClure ont montré les applications potentielles du chitosane dans la médecine vétérinaire.

Dans l'organisme, le chitosane n'étant pas hydrolysé par les enzymes digestives humaines, possède une charge ionique positive, il peut se lier facilement aux molécules chargées négativement comme les lipides, les graisses et les acides biliaires. Ils forment une masse qui ne peut pas être absorbée par l'estomac ; celle-ci est éliminée par voies naturelles. De cette façon le chitosane permet de diminuer le taux de cholestérol et est devenu le numéro un des produits amincissants naturels. En plus, le chitosane se comporte comme antimicrobien, antiviral, anti-cancer, ... etc.

III.6.2. En cosmétique

La chitine est utilisée comme agent hydratant. Le chitosane forme à la surface de la peau un film protecteur et tenseur, capable de fixer d'autres principes actifs pour la peau. Il est aussi utilisé comme filtre solaire et rentre dans la composition de la pâte des dentifrices, crème de soins, shampooing, De nombreux brevets ont été déposés dans ce domaine.

III.6.3. En agriculture

La chitine et le chitosane ont des propriétés phytosanitaires et antifongiques. Ils sont capables de déclencher chez les plantes des mécanismes de défense contre les infections et les agressions parasitaires et ceci avec des doses extrêmement faibles, de l'ordre de quelques milligrammes par mètre cube d'eau. Ils peuvent être utilisés en solution, en poudre ou en enrobage de semences.

III.6.4. En traitement des eaux

Le chitosane est utilisé pour ses propriétés coagulantes et son pouvoir chélatant qui lui permettent de fixer les métaux lourds comme le mercure, le cuivre, le plomb, etc

Tableau 3. Quelques applications du chitosane dans différents domaines d'exploitation :

Domaine médicale

- Sutures chirurgicales
- Implants dentaires
- Peaux artificielles
- Reconstructions osseuses

Domaine agriculture

- Mécanisme défensive
- Stimule la croissance des plantes
- Enrobage (protection)

Domaine traitements des eaux

- Polymère écologique
- Pouvoirs séquestrants (métaux lourds, colorants etc.)
- Diminution de la turbidité
- Diminution des odeurs
- Bactéricides

Domaine alimentaire

- Non digestible (diète aux fibres)
- Hypocholestérolémiant
- Agent de conservation
- Stabilisateur Antimicrobien

Domaine cosmétique

- Crèmes de traitement de l'acné
- Produits hydratants
- Formulation de dentifrices

Domaine biopharmaceutique

- Immunostimulants
- Antitumoraux
- Anticoagulants
- Libérations contrôlées (matrices)



Partie expérimentale

Partie expérimentale

I. Matériels et Méthodes

Dans cette partie nous allons définir les matériels utilisés pour extraire les produits chitineux et les méthodes utilisées pour caractériser ces produits extraits :

I.1. Les matériels utilisés

Les matériels que nous en avons besoin sur ce projet sont :

- **Balance** : Il nous aide à savoir la différence entre le poids avant et après chaque étape de l'extraction.
- **Agitateur** : Nous utilisons celui-ci pour accélérer les réactions de l'extraction.
- **Etuve** : pour ce appareille nous l'utiliserons pour sécher les échantillons récupérer de chaque étape de l'extraction.



Figure 4. Les matériels utilisés

I.2. Produits chimiques

- **Acide chlorhydrique (HCl)** : pour éliminer les minéraux de notre matière primaire.
- **Hydroxyde de sodium (NaOH)** : on l'utiliser pour élimination des protéines.
- **Peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)** : nous allons utiliser l'eau oxygénée pour la dépigmentation des écailles.
- **Acide acétique (CH₃COOH)** : ce produit est pour le test de solubilités il nous aide de confirmer la réussite du processus de l'extraction.

I.3. Produit biologique :

Et comme une matière biologique nous utilisons les écailles de Tilapia de Nil. Ces poissons sont pêchés au niveau de l'exploitation de l'UNIVERSITE KASDI MERBAH Faculté Des

Sciences De La Nature Et De La Vie, donc comme première étape avant de recueillir les écailles, nous devons nettoyer nos poissons, puis faire un simple grattage pour collecter autant que possible des écailles.

➤ **Classification :**

Super-classe : Osteichthyes

Classe : Actinopterygii

Sous-classe : Neopterygii

Infra-classe : Teleostei

Super-ordre : Acanthopterygii

Ordre : Perciformes

Sous-ordre : Labroidei

Famille : Cichlidae

Genre : Oreochromis

Nom binominal : *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758)



Figure 5. Tilapia de Nil (*Oreochromis niloticus*)

II. Procédés de l'extraction (voir annexe n°2)

II.1. Extraction de chitine et chitosane à partir des écailles de Tilapia (*oreochromis niloticus*)

II.1.1. Prétraitement

Pour isoler les composés chitineux à partir des écailles de Tilapia, nous avons procédé au protocole suivant, les écailles récupérées sont bien rincées et séchées dans une étuve à une température de 45°C pendant 24 heures. Après le séchage, les écailles ont été pesées pour connaître le poids sec.

Nous avons préparé 3 échantillons, chaque échantillon contient 15g d'écailles.

II.1.2. Déminéralisation

Cette étape a pour but d'éliminer les minéraux qui sont présents dans les écailles. Pour se faire nous avons mis chaque échantillon dans une solution de 500 ml, dans des concentrations différentes d'HCl (0,5%, 1%, 2%) dans le but d'optimiser les conditions opératoires de déminéralisation. Chaque échantillon est soumis à une agitation continue à raison de 750 tr/min pendant 6 heures, pour extraire le maximum de la matière minérale dans ces écailles. Une fois la réaction est terminée, l'échantillon est filtré, ensuite rincer par l'eau distillée pour éliminer les traces d'HCl, et enfin met à l'étuve pour le séchage à 45°C pendant 24 heures.

II.1.3. Déprotinisation

Cette étape est déroulée dans un milieu alcalin. Les écailles déminéralisées, après des lavages à l'eau jusqu'au pH neutre, ont été mélangées dans des solutions de soude caustique (NaOH) en proportion 1:10 p/v (poids de carapace sec/volume NaOH). Les expériences de cette étape ont été réalisées avec des concentrations de NaOH à 5%, à une température de 50°C pendant 4 heures. A la fin de réaction, les échantillons ont été récupérés par filtration, en suite lavés abondamment par l'eau distillée pour éliminer les traces de NaOH. Les échantillons ainsi récupérés sont séchés à l'étuve à 45 °C.

II.1.4. Blanchissement

C'est une étape facultative qui consiste d'éliminer la pigmentation de nos produits avec une simple traitement dans solution de H₂O₂, la quantité d H₂O₂ utiliser est calculer par la ratio poids/ volume (2g/10 ml de solution de H₂O₂ dilué). Le temps d'agitation est de 2 heures avec une vitesse de 750 tr/min.

II.1.5. Test de solubilité à l'acide acétique

Ce test a pour but confirmer la nature de produit chitineux s'il est chitine ou bien chitosane. Contrairement à la chitine qui est insoluble dans les solvants aqueux, le chitosane est soluble dans les acides faiblement dilués comme l'acide acétique.

Ce test consiste à mettre 0,2g dont une solution de 20 ml (1ml de l'acide acétique + 19 ml d'eau) sous une agitation à 750tr /min pendant 2 h, à la fin de la réaction on vérifie si les produits chitineux est dissous ou non.

II.1.6. Désacétylation

Le résultat des étapes précédentes c'est un produit qui n'est pas soluble dans l'acide à faible concentration il s'appelle la chitine c'est un copolymère linéaire, aléatoire, de glucosamine. Pour le transformer en chitosane nous allons le mettre dans une solution aqueuse de 100 ml à 5% de Na OH, puis maintenu sous agitation à 750 trs / min pendant 4 h à 50°C dans un réacteur en verre. Après cela, le milieu réactionnel a été filtré et les matières solides ont été lavées à l'eau distillé jusqu'à neutralité

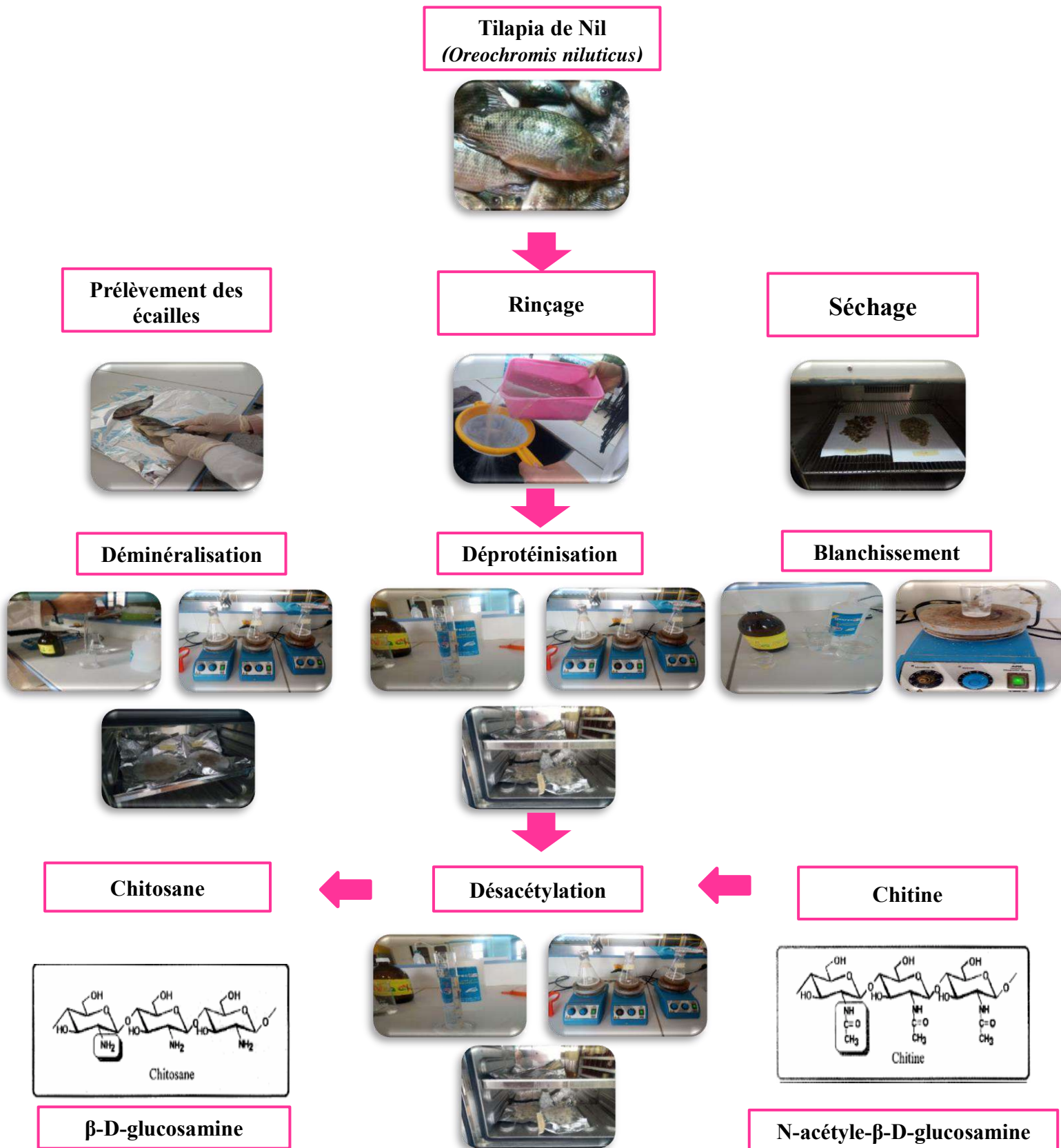


Figure7 : le protocole expérimental de l'extraction de la chitine et du chitosane

III. Analyses et caractérisation des produits chitineux (voir annexe n°3)

III.1. Spectroscopie infrarouge

La spectroscopie infrarouge est souvent utilisée dans la caractérisation de produits organiques et également utilisée dans l'analyse des produits inorganiques.

Cette technique est basée sur l'absorption par les matériaux d'ondes électromagnétiques du domaine infrarouge, qui s'étend de 0,7 μm à 1000 μm et qui vont exciter les mouvements de vibration des liaisons chimiques. Dans cette étude, seul le moyen infrarouge, de 2,5 μm à 25 μm , a été mis en œuvre.

Les analyses IR ont été réalisées par transmission à l'aide d'un spectrophotomètre, modèle iS 10 de la société ThermoFisher équipé du logiciel OMNIC. Les échantillons analysés sont sous forme de pastilles contenant 1 mg d'argile, de chitosane ou de composite mélangé avec 90 mg de bromure de potassium KBr. Le mélange est bien homogénéisé puis compressé à 10 t.cm⁻². La pastille rigide obtenue est presque transparente.

III.2. Diffraction de rayons X

La diffraction des rayons X permet d'étudier la structure cristalline et l'orientation des cristaux des échantillons.

La distance entre les feuillets est calculée à partir de la loi de Bragg :

$$2 * d_{hkl} * \sin\theta = \lambda \quad (\text{Eq 1.15})$$

Où d représente la distance inter-réticulaire des plans, θ l'angle d'incidence du faisceau sur ces plans, λ la longueur d'onde des rayons X utilisés.

Les analyses ont été réalisées au moyen d'un appareil type X'Pert PhilipsTM Pan Analytical avec un montage expérimental de type Bragg-Brentano. L'échantillon est balayé par un rayonnement de longueur d'onde $\lambda_{K\alpha} = 1,541 \text{ \AA}$ produit par une anticathode de cuivre. Le générateur est fixé à 45 kV et à un courant de 40 mA. Les données sont collectées dans une gamme angulaire comprise entre 5°-80° (2 θ) avec un pas d'angle de 0,0334° en mode 2 θ et un temps par pas contrôlé. L'analyse des données est faite à l'aide du logiciel X'Pert Data Collector et l'identification des phases avec le logiciel PAN analytical High Score Plus et les bases de données ICDD (International Centre for Diffraction Data, en anglais).

III.3. Analyse thermique

L'analyse thermogravimétrique (ATG) apporte des informations sur la variation en masse d'un matériau et les transformations qu'il peut subir à une température donnée. L'analyse thermique différentielle (ATD) permet de rendre compte des variations enthalpiques ainsi le flux de chaleur corps - enceinte d'analyse sera modifié en augmentant, dans le cas d'une réaction exothermique (montée en température), et en diminuant (descente en température) dans le cas contraire. Souvent, c'est le couplage de ces deux techniques qui est utilisé afin d'identifier les transformations du produit étudié.

Les analyses thermiques différentielles et gravimétriques (ATD/ATG) des matériaux étudiés ont été obtenues à l'aide d'un analyseur thermique simultané de type TG-ATD 92-16 de chez Setaram. L'analyse thermique s'est faite dans un creuset en platine allant de 30 °C à 500 °C avec une montée en température de 5 °C/min.

III.4. Morphologie et microstructure par Microscopie Electronique à Balayage

Le MEB est constitué de deux parties principales : la colonne qui contient le canon à électrons et la chambre d'observation où l'on place l'échantillon balayé par le faisceau d'électrons. Ainsi l'interaction faisceau d'électrons - matière, génère des électrons qui sont collectés par un détecteur, puis convertis en un signal amplifié et utilisé pour moduler la brillance de l'écran d'observation. Celui-ci est d'autant plus brillant que le nombre d'électrons émis est important.

Il existe deux types d'électrons émis par l'échantillon :

- Des électrons secondaires, de faible énergie, qui sont détectés avec le détecteur « SE ». Ils donnent une image en contraste topographique.
- Des électrons rétrodiffusés, plus énergétiques, qui sont collectés par le détecteur « BSE ». Ils donnent une image en contraste chimique : les éléments lourds (numéro atomique élevé) apparaissent plus brillants que les éléments légers.

Dans notre étude, les observations au microscope électronique à balayage, réalisées sur un appareil type XL30 ESEM FEG (Field Emission Gun pour canon à émission de champ) de la société FEI, nous ont permis de visualiser la microstructure du chitosane et. L'analyse a été effectuée sur une poudre préalablement recouverte d'une f



Résultats et discussion

I. Résultats:

Nous voyons qu'il y a une différence dans les résultats (Tab 4) et ceci a une relation à les concentrations différentes de HCL utilisées pendant déminéralisation, comme résultat plus concentration élevée plus l'absorption de la solution acide élevée sur les couches carbonates (Truong *et al* ;2007) qui sont présentes au niveau de l'écaille de poisson :

Tableau n°4 : la différence entre l'extraction à partir des écailles de Tilapia de Nil avec des concentration différents en HCl où (T 0.5%= Échantillon des écailles de Tilapia de Nil en 0.5% HCl ; T 1% = Échantillon des écailles de Tilapia : de Nil en 1% HCl ; T 2% = Échantillon des écailles de Tilapia de Nil en 2% HCl) .

	poids initiale	Déminéralisation	Déprotéinisation	Blanchissement	Désacétylation
T 0,5%	15g	10	7.9	7.3	4.1
T 1%	15g	7.7	6.4	5.7	4.5
T 2%	15 g	6.8	5.5	2.5	1.1

II. Discussion

II.1. Analyse par spectre-infrarouge a transformé de fourrier :

Les structures des trois types des produits chitineux différents ont été confirmées par spectre FTIR dans la gamme de 400-4000 cm^{-1} (figure 26). On a observé que les spectres a, b et c de trois types de chitine avaient une bande d'absorption de (3422,06, 3444,24 et 3446,17 cm^{-1}) qui correspondait aux vibrations vibratoires et aliphatiques O-H et NH des groupes amine libres. D'autres bandes d'absorption ont été trouvées à (2925, 2927 et 2919 cm^{-1}) pour a, b et c, respectivement, ce qui correspond à l'étirement asymétrique de CH_3 et CH_2 . De plus, les bandes de vibration en flexion de NH_2 , groupe important dans la chitine et le chitosane, ont été observées dans les bandes (1537, 1542, 1594 cm^{-1}) respectivement pour les produits chitineux. La vibration d'étirement pour le cycle glucosamine-C-O-C-a été indiquée par les bandes d'absorption à (1012, 1015 et 1022 cm^{-1}) pour les trois types des produits chitineux respectivement. Alors que, les bandes (897,70, 895,77 et 876,48 cm^{-1}) correspondaient à l'étirement du cycle pour les β -1,4 glycosidiques

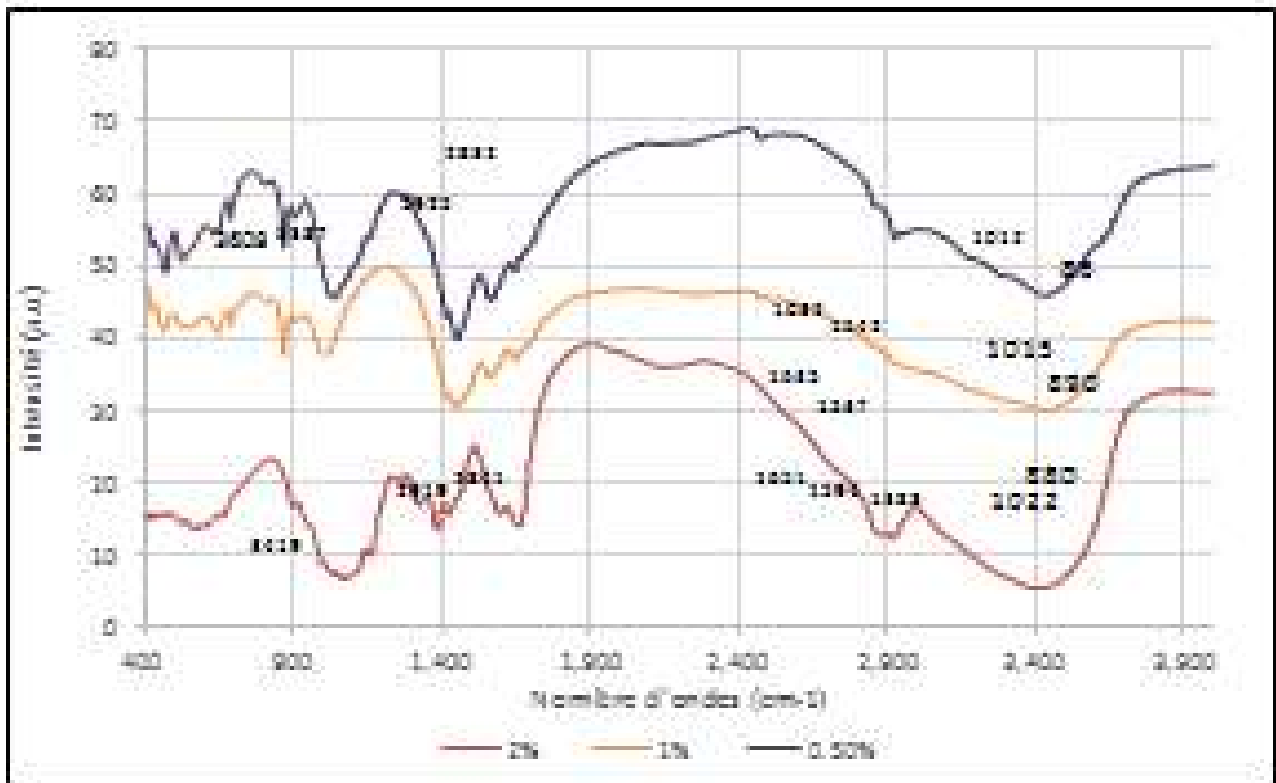


Figure 6. Spectres IRTF des produits chitineux obtenu par les écailles de Tilapia (0,5%,1%,2%)

II.2. Diffraction aux rayon X

L'analyse par diffraction aux rayons X pour les trois échantillons chitineux est représentée sur la figure n°26 :

Les diffractogrammes DRX des trois produits chitineux montre trois pics à 9,3, 20 et 26. Ces pics sont attribués à la chitine (Das *et al.*, 1996; Abdou *et al.*, 2008b; Kaya *et al.*, 2014). (Zhang *et al.*, 2005) a décrit la chitine par les pics près de 9,39 ° et 19,22 ° qui étaient légèrement différents avec le chitosane. Ainsi, nos échantillons chitineux présentent les mêmes être déterminés en tant que chitine. De plus, les pics à 9,35 ° et 19,42 ° sont plus proches du pic de chitine que le chitosane (Bangyekan *et al.*, 2006; Trung *et al.*, 2006; Abdou *et al.*, 2008a; Islam *et al.*, 2011). Ce qui montre que les échantillons extraits dans notre étude et s'agit de la chitine. Cependant on constate une légère diminution de l'intensité du pic 9 avec des concentrations élevées de NaOH, montrant que le degré de désacylation commence à augmenté.

Les pics de diffraction 9° et 20° sont attribués à la forme semi cristalline de la chitine (Abdou *et al.*, 2008a; Islam *et al.*, 2011). Ces résultats montrent que la chitine a été extraite.

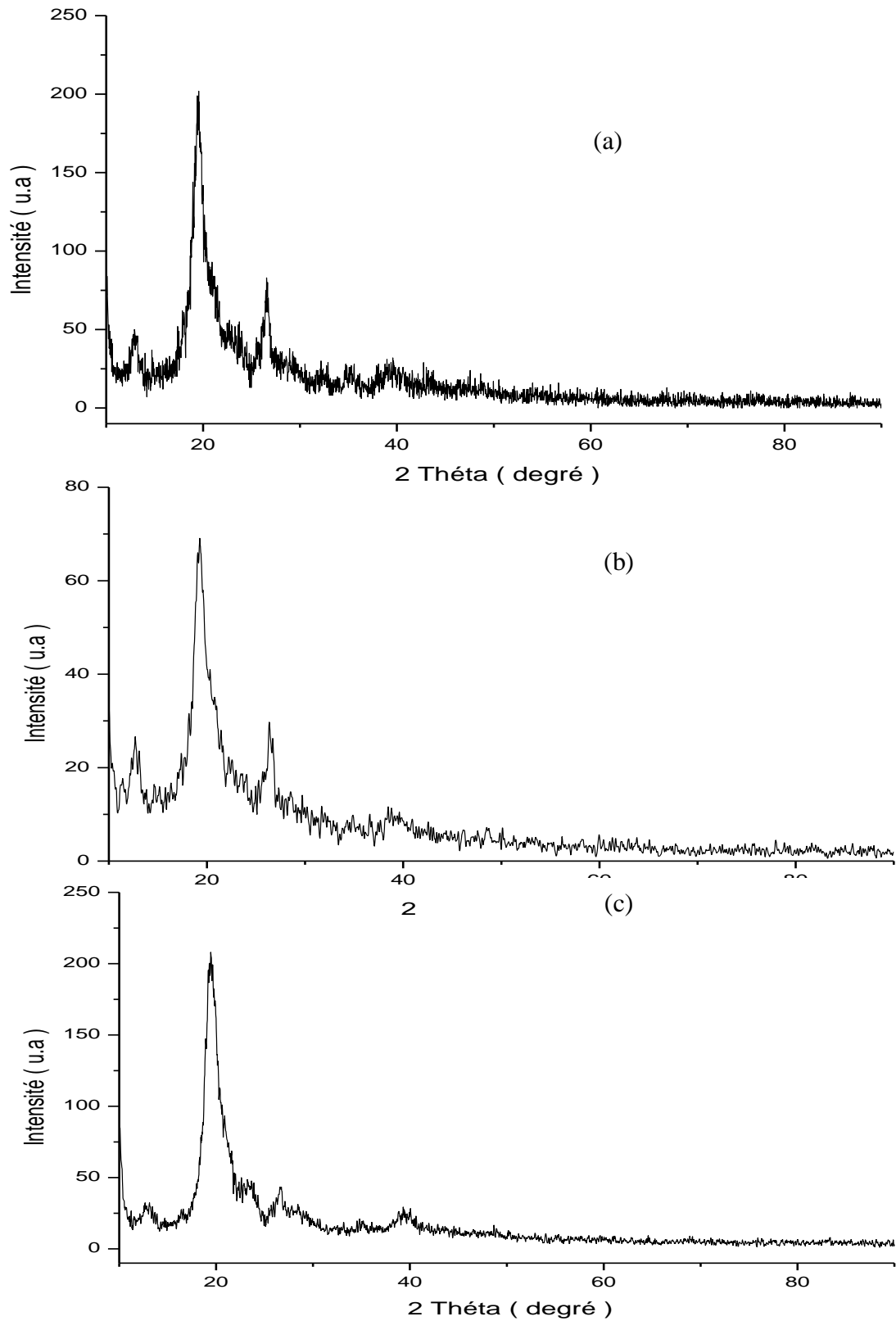


Figure 7. Diffraction aux rayons X des produits chitineux obtenu par les écailles de Tilapia (a= 0,5%, b= 1%, c= 2%)

II.3. Analyse thermique

Une analyse thermogravimétrique (ATG) est réalisée, qui consiste à étudier la dégradation thermique de la des produits chitineux. Le tableau révèle deux étapes de dégradation (tab2) . La première étape de la dégradation de la chitine s'est produite à une température allant de 30 ° C à 120 ° C avec respectivement 7% et 12% et 11 % de perte de poids. Cette dégradation peut attribuer à la perte de molécules d'eau car la chitine a une forte affinité vis-à-vis de l'eau. La deuxième étape de la dégradation de la chitine et du chitosane commence autour de 150 C à 400 C avec 44%, 48% et 51 % respectivement, de perte de poids, respectivement. La deuxième dégradation appartient à la décomposition thermique de la chitine. Bien que les différents produits chitineux préparées montrent une tendance similaire de dégradation thermique.

Tableau 5. Analyse thermique des produits chitineux : (T0.5= Échantillon Tilapia 0.5% ; T1= Échantillon Tilapia 1% T 2 = Échantillon Tilapia 2%)

	30-120°C	150-400°C
T 0,5	7%	44%
T 1	12%	48%
T 2	11%	51%

III.4. Analyse par microscope électronique à balayage

Les images obtenues par le microscope à balayage de l'échantillons de chitine (a= Échantillon Tilapia 0.5% ; b= Échantillon Tilapia 1% ;c = Échantillon Tilapia 2%) (fig n°28) .

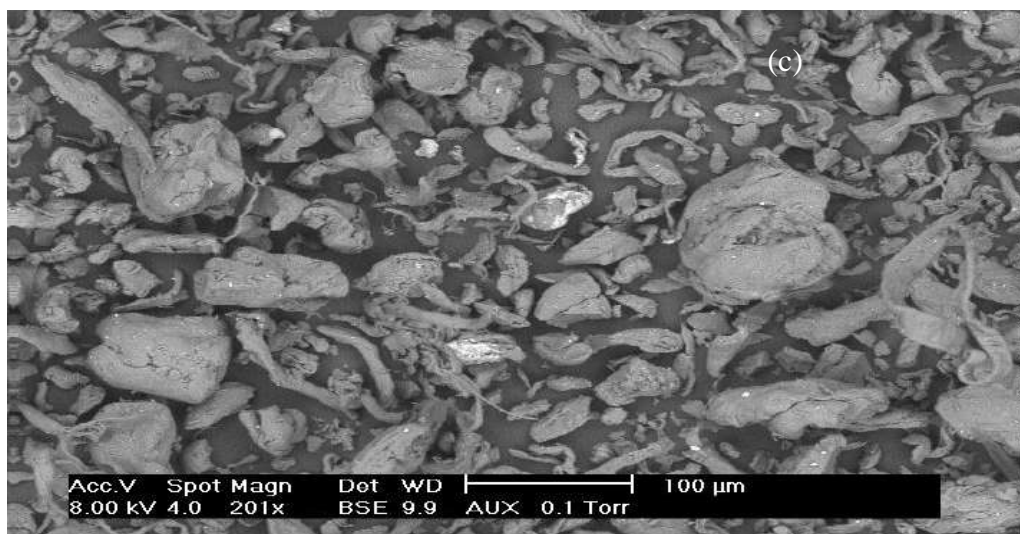
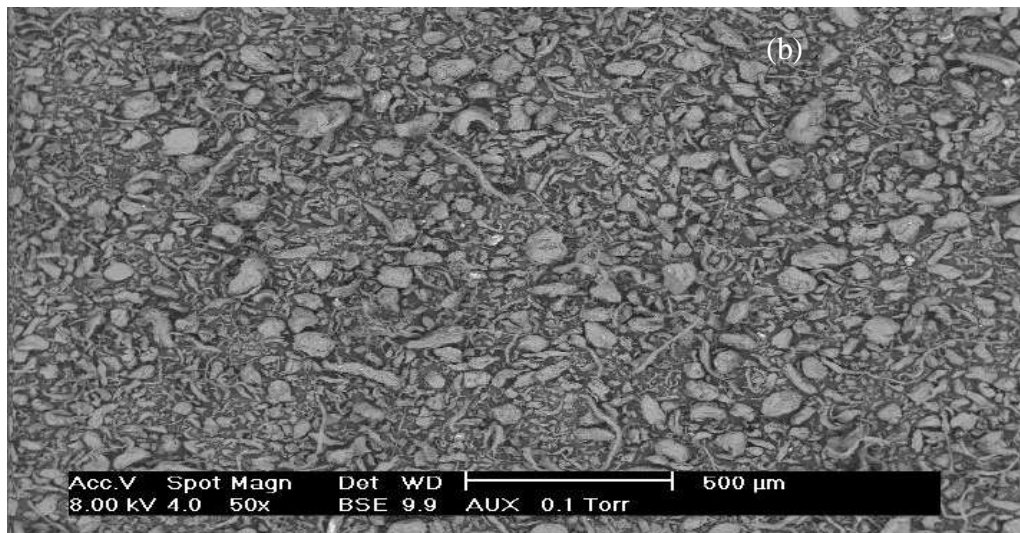
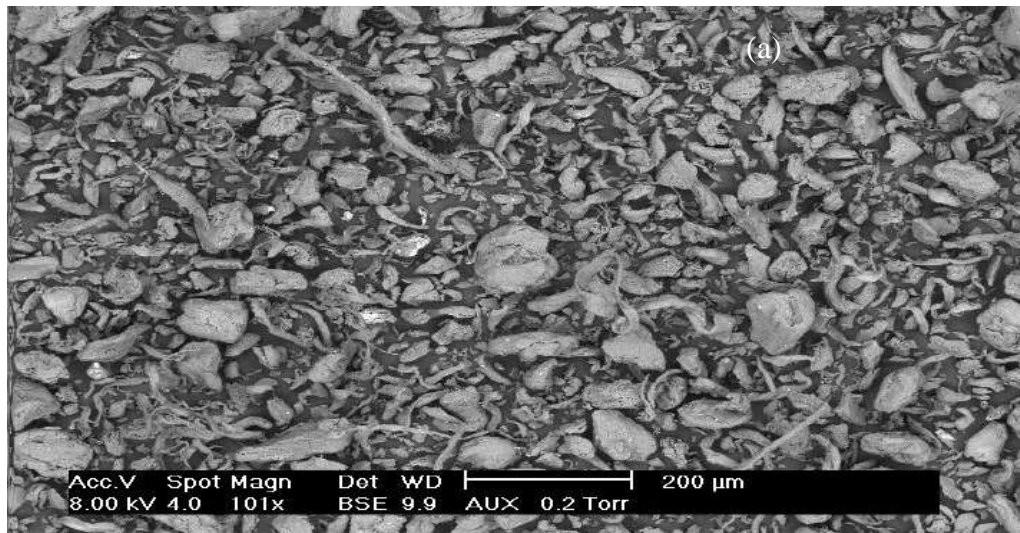


Figure 25. Observation des produits chitineux obtenus par les écailles de Tilapia (a= 0,5%, b = 1%, c = 2%) sous microscope électronique à balayage



Conclusion

Conclusion

- Notre principal objectif c'était de l'extraction de polysaccharides a partir des écailles de poisson et l'os de seiche on peut dire que nous avons atteint de notre de objectif car la matière qui résultant de l'extraction qui on a fait c'est la chitine qui est considéré comme un polysaccharide très abondant dans la nature après la cellulose.et c'est une façon de valorisation, qui est définir par La valorisation est un terme générique recouvrant le recyclage des déchets par l'extraction des substance bioactive qui constituer les dernier. Ces sous-produits de la pêche sont maintenant considérés comme des matières premières destinées à la production de nouvelles substances utilisables ont des applications potentielles en santé humaine mais aussi dans d'autres domaines : nutrition, agent antimicrobien, purification d'eaux. Les sous-produits aquacoles utiliser dans notre travaille c'était les écailles de Tilapia de Nil pour obtenue un produit chitineux pare l'extraction par voies chimique. On fait des analyses pour caractérisée le produit obtenu qui sont :
 - ✓ Spectroscopie infra-rouge à transformer de fourrier (IRTF)
 - ✓ Détermination du degré d'acétylation des produits chitineux
 - ✓ Diffraction rayons X (DRX)
 - ✓ Microscope électronique à balayage (MEB)
- Nous pourrions avoir du chitosane si nous faisons une autre étape de désacétylation mais malheureusement nous n'avons pas eu beaucoup de temps pour le refaire,
- Nous avons eu beaucoup de problèmes pendant notre période de travail :

Premièrement, nous avons eu des problèmes l'absence de la présence de matières premières en particule les écailles de poisson ; deuxièmement, manque des moyens qui permettant de mener des analyses de caractérisations pour tous les produits qui on a extraire où on était obliger de faire ces analyses en Algérie pour nous obtenons notre résultat ; troisièmement, l'utilisation des volumes massive des solutions de l'extraction qui est considéré une du des inconvénients de l'extraction chimique.

- Permet les aspect positive de l'extraction chimique c'est elle ne prend pas beaucoup de temps, et facile à manipulation, mais dans l'autre aspect L'extraction chimique traditionnelle emploie de grandes quantités de réactifs (principalement l'acide chlorhydrique, l'hydroxyde de sodium et des agents de blanchiment) qui sont nocifs pour les manipulateurs, les équipements et l'environnement. De plus, l'étape de déprotéinisation basique se fait en général à chaud et nécessite donc un apport

énergétique important. En outre, les étapes de lavage génèrent des volumes très importants d'effluents pollués dont le recyclage est techniquement difficile et d'un coût important. Généralement les étapes de l'extraction chimique nécessitent toujours une autre étape c'est la pureté pour s'assurer que le produit extrait c'est pur par contre l'extraction enzymatique qui nous donne direct



Références bibliographiques

Références bibliographiques

Référence bibliographies

A

1. A .Einbau, H Grasdalen, KM Vårum - Carbohydrate research.2007;Kinetics of hydrolysis of chitine/chitosane oligomers in concentrated hydrochloric acid 342;1055-1062.
2. A .NadjiaAdresse . 2016 ; Préparation de chitosanes à partir de la biomasse marine. Application au conditionnement des boues urbaines ; Universite Mouloud MAMMERRI Tizi-Ouzou 15000 Algerie .
3. A .Tolaimate,J Desbrieres,M Rhazi,A Alagui - Polymer.2003 ;Contribution to the preparation of chitines and chitosanes with controlled physico-chemical properties ; Diagnosing and Changing Organizational Culture: Based on the Competing 26,7939-7952 .
4. A,Hirai, R. Kano, K. Makimura, E. Duarte , J. Hamdan, M.Lachance, H. Yamaguchi², A.Hasegawa .01 March 2004 ,Malassezia nana sp. nov., a novel lipid-dependent yeast species isolated from animals , International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 54: 623-627.
5. A.Greiner Joachim H. Wendorff .2007 Elektrosponnen: eine faszinierende Methode zur Präparation ultradünner Fasern Volume 63.8.
6. Abdou, E.S., Nagy, K.S., Elsabee, M.Z., 2008b. Extraction and characterization of chitine and chitosane from local sources. Bioresource technology 99, 1359-1367.
7. Al-Malah, K.I.M., Abu-Jdayil, B., Zaitoun, S., and Ghzawi, A.A.M. 2001. Application Chitosane and gelatin based edible films: Bello-Perez, L.A., Ottenhof, M.A., Agama-Acevedo, E., and Farhat, I.A. 2005. Shahidi, F. and Han, X.Q. 1993.

B

8. Bangyekan, C., Aht-Ong, D., Srikulkit, K., 2006. Preparation and properties evaluation of chitosane-coated cassava starch films. Carbohydrate polymers 63, 61-71.
9. Battisti, Marcos V.; Campana Filho, Sergio P. (Sao Paulo Univ., Sao Carlos, SP (Brazil). Inst. de Quimica).2001; Obtention and characterization of chitine and chitosane from M. rosenbergii. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS (Brazil). Inst. de Quimica; 2001; ; 6. Brazilian congress on polymers; 6.

Congresso brasileiro de polimeros; 9. International macromolecular colloquium; 6. Congresso brasileiro de polimeros; Gramado, RS (Brazil); Gramado, RS (Brazil); 11-15 Nov 2001; 11-15 Nov 2001; Volume 38.



10. C.Chatelet^aO.Damour^bA.Domard^a. 2001, Influence of the degree of acetylation on some biological properties of chitosane films; Biomaterials. Volume 22, Issue 3, 261-268.
11. C.SukKong ,J.AeKim,S.SunBak,H.GukByun,S.KwonKim . March 2011. Anti-obesity effect of carboxymethyl chitine by AMPK and aquaporin-7 pathways in 3T3-L1 adipocytes. The Journal of Nutritional Biochemistry Volume 22, Issue 3, , Pages 276-281.
12. Chang-SukKong^aJung-AeKim^bSoon-SunBak^cHee-GukByun^dSe-KwonKim^{bc} . March 2011, Anti-obesity effect of carboxymethyl chitine by AMPK and aquaporin-7 pathways in 3T3-L1 adipocytes -The Journal of Nutritional Biochemistry, Volume 22, Issue 3 276-281.
13. C .Wehrhahn, KLI Gilbert - insect physiology, biochemistry.1985 ;Visual guidance of flies during flight 673-684.



14. D.Blackwell and James B. MacQueen . , No. 2 (Mar., 1973),*The Annals of Statistics* Ferguson Distributions Via Polya Urn Schemes . Journal Article. 353-355 .
15. Das, N., Khan, P., Hossain, Z., 1996. Chitine from the shell of two coastal portunid crabs of Bangladesh. Indian J. Fish 43, 413-415.



16. F.RenaultB.SanceyP.-M.Badot.G.Crini.2009 ; Chitosane for coagulation/flocculation processes – An eco-friendly approach, European Polymer Journal, Volume 45, Issue 5, 1337-1348.



17. F Shahidi, R Abuzaytoun - Advances in food and nutrition .2005.Chitine, chitosane, and co-products: chemistry, production, applications, and health effects 94-103 .

J

18. G.Fundueanu,C.Nastruzzi,A.Carpov,J.Desbrieres,M.Rinaudo.1999.Physico-chemical characterization of Ca-alginate microparticles produced with different methods- *Biomaterials* , Volume 20, Issue 15, 1427-1435 .
19. G. K.MooreGeorge ,A.F.Roberts.1980, Chitosane gels: 1. Study of reaction variables; *International Journal of Biological Macromolecules* , Volume 2, Issue 2, 73-77.
20. G. Crini .2009 Chitine et chitosane: du biopolymère à l'application ; Deârtment of food science and technolgy ;university of nebraska lincoln nebraska USA 20-33 .

H

21. Hong K. No, Samuel P. Meyers, and Keun S. Lee . 1989. Isolation and characterization of chitine from crawfish shell waste. *37 (3)*, pp 575–579 .
22. H .ZEMMOUR .2008 , Le Chitosane ... est-il la molécule du siècle -Division Bio-Energie et Environnement ;3.4.

I

23. Islam, M.M., Masum, S.M., Rahman, M.M., Molla, M.A.I., Shaikh, A., Roy, S., 2011. Preparation of chitosane from shrimp shell and investigation of its properties. *Int. J. Basic Appl. Sci* 11, 116.
24. I.Younes and M. Rinaudo . 2015. Chitine and Chitosane Preparation from Marine Sources. *Structure, Properties and Applications*, *13(3)*, 1133-1174.

J

25. J.Wang,C.Chen.2014, Chitosane-based biosorbents,Modification and application for biosorption of heavy metals and radionuclides. *Bioresource Technology*. Volume 160, 129-141.

K

26. K.Kurita. June 2006. Chitine and Chitosane: Functional Biopolymers from Marine Crustaceans. Department of Materials and Life ScienceSeikei UniversityMusashino-shiJapan. 8: 203.
27. K.L.B.ChangJ.Lin . 2000, Swelling behavior and the release of protein from chitosane–pectin composite particle -*Carbohydrate Polymers* , Volume 43, Issue 2, 163-169.

28. Kaya, M., Baran, T., Mentés, A., Asaroglu, M., Sezen, G., Tozak, K.O., 2014. Extraction and characterization of α -chitine and chitosane from six different aquatic invertebrates. *Food biophysics* 9, 145-157



29. Linnaeus, C. 1758. Tomus I. *Syst. nat.*, ed. 10. Holmiae, Laurentii Salvii: [1-4], 1-824.



30. M.Spindler-Barth , M.Londershausen, April 1990, Chitine metabolism: a target for drugs against parasites , Volume 76, Issue 4, pp 283–288
31. M.R.Kasaai.2007,Calculation of Mark–Houwink–Sakurada (MHS) equation viscometric constants for chitosane in any solvent–temperature system using experimental reported viscometric constants data, *Carbohydrate Polymers*, Volume 68, Issue 3, 477-488.
32. M.Rinaudo,2006. Chitine and chitosane: Properties and applications-Progress in *Polymer Science* ; Volume 31, Issue 7, 603-63.
33. M.Hiep Nguyen, N.Duy Pham, Bingxue Dong, Thi-Huynh-Nga Nguyen, Chi-Bao Bui & Kunn Hadinoto .2017. Radioprotective activity of curcumin-encapsulated liposomes against genotoxicity caused by Gamma Cobalt-60 irradiation in human blood cells - *International Journal of Radiation Biology Articles* , Volume 93, - Issue 11 .
34. M.S.Benhables^aR.Salah^aH.Lounici^aN.Drouiche^{ac}M.F.A.Goosen^dN.Mameri^b. October 2012, Antibacterial activity of chitine, chitosane and its oligomers prepared from shrimp shell waste - *Food Hydrocolloids*; Volume 29, Issue 1,48-56.



35. N.Taouint Aissa .2016 ; Mémoire de magister en chimie ;Préparation de chitosanes à partir de la biomasse marine. Application au conditionnement des boues urbaines; 06-18.



36. Paulino A., Simionato J., Garcia J. et Nozaki J., *Carbohydrate Polymers*, 2006, 64, 98-103.

R

37. R.Bumper, 2001 . Evaluation of nisin-loaded chitosane-monomethyl fumaric acid nanoparticles as a direct food additive- Carbohydrate Polymers ;Volume 184, , 100-107
38. Rinaudo, M., 2006. Chitine and chitosane: properties and applications. Progress in polymer science 31, 603-632.
39. Rinaudo, M., 2008. Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials. Polymer International 57, 397-430.
40. R.Rafik ,2011. These de doctorat , Valorisation des produits et co-produits de la seiche commune (*Sepia officinalis*) pour l'obtention de biomolécules à haute valeur ajoutée à usage alimentaire et nutraceutique 5-6 .
41. Rinaudo, M., 2006. Chitine and chitosane: properties and applications. Progress in polymer science 31, 603-632.
42. Rinaudo, M., 2008. Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials. Polymer International 57, 397-430.
43. R.Karine LEJean-Pascal BERGÉ Régis BARONÉric LEROY Abdellah Arhaliass . ,2011.- Extraction de chitines en une seule étape par hydrolyse enzymatique en milieu acide.article . Centre National de la Recherche Scientifique CNRS .Institut Francais de Recherche pour L'exploitation de la Mer (IFREMER).Universite de Nantes.

S

44. Sajomsang W. et Gonil P., Mat. Science Engineering C, 2010, 30(3), 357-363.
45. S. Assaad, 2015, Thèse de doctorat, Récupération de biomolécules d'origine aquatique en vue d'une valorisation comme ingrédients fonctionnels dans les domaines alimentaire et pharmaceutique, 258 .
46. S.Abdou^aKhaled S.A.Nagy^aMaher Z.Elsabee^b . Bioresource Technology Extraction and characterization of chitine and chitosane from local sources. Volume 99, Issue 5, March 2008, 1359-1367
47. S.Cataldo^a,F.Crea^b,A.Gianguzza^a;A.Pettignano^a,D.Piazzese^a ; 30 September 2009 ; Journal of Molecular Liquids ,Solubility and acid-base properties and activity coefficients of chitosane in different ionic media and at different ionic strengths, at $T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, Volume 148, Issues 2–3, 120-126.

T

48. T .AISSA Nadjia,2016, Mémoire de magister, Préparatio de chitosane à partir de la

biomasse marine application au conditionnement des boues urbaines,118 .

49. Trung, T.S., Thein-Han, W.W., Qui, N.T., Ng, C.-H., Stevens, W.F., 2006. Functional characteristics of shrimp chitosane and its membranes as affected by the degree of deacetylation. *Bioresource technology* 97, 659-663.
50. Truong,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*. Volume 20, p253-321

W

51. W.Sajomsang . et Gonil P., *Mat. Science Engineering C*, 2010, 30(3), 357-363.

y

52. Younes, I., Rinaudo, M., 2015. Chitine and chitosane preparation from marine sources. Structure, properties and applications. *Marine drugs* 13, 1133-1174.

26

53. X.Kang^{ab}J.Wang^aH.Wu^aIlhan A.Aksay^cJunLiu^aYueheLin^a . 15 December 2009. Glucose Oxidase–graphene–chitosane modified electrode for direct electrochemistry and glucose sensing . *Biosensors and Bioelectronics* .Volume 25, Issue 4, 901-905.

3

54. Zhang, Y., Xue, C., Xue, Y., Gao, R., Zhang, X., 2005. Determination of the degree of deacetylation of chitine and chitosane by X-ray powder diffraction. *Carbohydrate Research* 340, 1914-1917

Site d'internet :

1. <https://patents.google.com/patent/EP2714918A1>. De la biomasse marine application au conditionnement des boues urbaines,118 page.



Appendix

ANNEXE 1

Les mots clés

- **Extraction** : est un procédé qui permet d'obtenir une espèce chimique à partir d'une substance naturelle qui la contient.
- **Valorisations** : est un terme générique recouvrant le recyclage matière et organique, la valorisation énergétique des déchets, ainsi que le réemploi, la réutilisation et la régénération.
- **Polysaccharide** : désigne des macromolécules formées par la polymérisation de glucides simples ou oses, des sucres; le mot correct en français est polyoside ou polyholoside, mais l'usage a consacré l'utilisation de cet anglicisme. Les polysaccharides sont des biomolécules formées par l'union d'un grand nombre de monosaccharides. Les polysaccharides de carbone appartiennent aux hydrates de carbone, et remplissent diverses fonctions, principalement de réserves énergétiques et structurelles. Les principaux polysaccharides sont: l'amidon, le glycogène, la cellulose et la chitine.
(Lire plus: <https://www.aquaportail.com/definition-1705-polysaccharide.html>)
- **Chitine** : fait référence aux polysaccharides de N-acétylglucosamines et glucosamines,
- **Chitosane** : fait référence à des produits de désacétylation de la chitine. La frontière entre le chitosane et la chitine correspond à un degré d'acétylation de 50% : en deçà, le composé est nommé chitosane, au-delà, chitine. « Biomasse animale » fait référence à l'ensemble des matières organiques d'origine animale.
- **Indice de cristallinité** : fait référence à la proportion de matière se trouvant à l'état cristallin.
- **Déminéralisation** : fait référence à un procédé d'élimination des minéraux.
- **Déprotinisation** : fait référence à un procédé d'élimination des protéines.
- **Désacétylation** : fait référence à l'élimination des groupements acétyles et correspond au passage de la chitine au chitosane.
- **Teneur en protéines** : fait référence au pourcentage massique de protéines contenues dans un échantillon.
- **Teneur en minéraux** : fait référence au pourcentage massique de minéraux contenus dans un échantillon.
- **Teneur de produite chitineux** : fait référence au pourcentage massique de chitine contenue dans un échantillon.

➤ **Les sous-produits** : comme des matières intentionnelles, ou non, et inévitables produites en même temps que le produit fini, pouvant être utilisées directement ou constituer un ingrédient pour la production d'un autre produit fini dans d'autres filières industrielles, excepté l'alimentation humaine.

Dans le cadre de l'alimentation des poissons d'élevage, il faut donc parler des sous-produits, issus de la pêche et de l'aquaculture.

➤ **Les sous-produits de poisson** sont formés par l'ensemble des rebuts de ces transformations et sont ainsi composés de têtes, viscères, parures, arêtes ou cartilage, peaux, queues, œufs ou laitance.

➤ **La valorisation de masse** : valorisation s'appliquant à des volumes de sous-produits importants et générant des produits à faible valeur ajoutée ;

➤ **La valorisation de niche** : valorisation s'appliquant à de faibles volumes de sous-produits d'excellente qualité et générant des produits à haute valeur ajoutée

ANNEXE 2

Les principes des appareils utilisés dans l'analyse

1. Spectromètre IR-TF Nicolet iS10

Produit IR-TF polyvalent pour le contrôle qualité haut débit et réglementé, et les laboratoires de support analytique. C'est le spectromètre idéal quand la spectroscopie IR-TF est primordiale pour la surveillance de l'uniformité des produits, l'analyse de défauts ou la déformulation de matériaux complexes. Si votre secteur exige la conformité à des réglementations strictes, le Nicolet iS10 est votre allié à chaque étape (fig 1).

La meilleure garantie de réussite pour l'identification des matières premières, des impuretés et des mélanges.

- Vérification en continu des performances.
- Ensemble complet d'outils de mise en conformité avec la réglementation.
- Édition électronique des procédures opératoires normalisées.
- Capacités d'échantillonnage avancées (ATG/IR, proche infrarouge, microscopie)
- Logiciel OMNIC primé



Fig 1 : Spectromètre IR-TF Nicolet iS10

2. Diffraction de rayon X

Appareil type X'Pert Philips™ Pan Analytical avec un montage expérimental de type Bragg-Brentano Diffractomètre «de poudre» PANalytical X'Pert PRO MPD

L'application principale de la technique de diffraction des rayons X dite « de poudre » est l'identification de phases ; elle peut être mise en œuvre sur tout type d'échantillon polycristallin se présentant sous forme pulvérulente, massive ou en film mince. L'indexation des pics obtenus lors de la mesure permet de remonter à la nature du matériau analysé à travers l'examen de sa structure cristallographique. L'étude des diffractogrammes de poudre permet de mettre en œuvre d'autres méthodes comme l'affinement des paramètres de maille, la détermination de taille de cristallites, pour aller jusqu'à l'affinement de structure. L'instrument est configurable pour des mesures en incidence rasante coplanaire spécifiques aux films minces polycristallins. Il peut également être configuré pour des mesures de réflectivité (fig 2) .

➤ Configuration du diffractomètre

- Longueur d'onde $K\alpha$ du cuivre ou du cobalt pour mesures en géométrie Bragg-Brentano
- Fentes de divergence et anti-diffusion programmables
- Spinner (réflexion) associé à un passeur automatique d'échantillons 45 positions
- Détecteur rapide 1D de type X'Celerator
- Monochromateur graphite pour $K\alpha$ (Cu) associé au détecteur X'Celerator
- Miroir de Gobel pour $K\alpha$ (Cu)
- Table motorisée XYZ.
- Porte-capillaire pour échantillons sertis en capillaires de verre.

(Rédigé par Rachel Martin mise à jour le 14 février 2017)

- . Des rayons X peuvent être obtenus à partir de :
- Transitions électroniques dans les couches internes atomiques

- Dans le spectre du rayonnement électromagnétique émis par accélération ou décélération de particules chargées relativistes.



Fig 2 : Appareil type X'PertPhilipsTM Pan PANalytical

3. Analyse thermique

Analyseur simultané ATG & DSC / ATD Gros volume & Haute température (ambiante à 2000°C) :

C'est un module de pesage aux performances exceptionnelles qui est utilisé pour le TGA 96. D'une portée maximale de 100 g, la balance est bien adaptée à la mesure de microquantités d'échantillon (quelques milligrammes) jusqu'aux échantillons volumineux et denses, tout en gardant une résolution de mesure équivalente au microgramme, quelle que soit la masse analysée. Des mesures TGA-DTA/DSC simultanées sont possibles(fig 3). TG – ATD simultanée :

- Ambiante à 1600°C- Ambiante à 1750°C
- Ambiante à 2000°CATG – DSC simultanée :
- Ambiante à 1500°C- Ambiante à 1600°C



Fig 3 : Analyseur thermique simultané de type TG-ATD 92-16 de chez Setaram .

4. Microscopie électronique à balayage :

La microscopie électronique à balayage (MEB en français et SEM pour Scanning Electron Microscopie en anglais) est une technique très répandue dans de nombreuses disciplines (notamment en physique, chimie, biologie, médecine...) permettant principalement d'observer la morphologie d'échantillons. Son utilisation ne se limite pas à cela, puisque cette technique permet également de donner des informations sur la composition des



Fig 4 : Microscopie électronique à balayage

Extraction des polysaccharides à partir des écailles de Tilapia de Nil

Résumé :

Ce mémoire est inscrit dans le but de faire un recyclage des sous-produits aquacoles pour les transformer aux dés matières primaires, nous avons fait une extraction chimique des produits chitineux à partir des écailles de Tilapia de Nil, en procédant au dévoilement de leurs caractéristiques physico-chimiques obtenues par voie chimique ; le degré d'acétylation, le degré de dépolymérisation et l'indice de cristallinité. Ce travail nous a permis de déterminer la morphologie de la chitine a été observée à travers la microscopie électronique à balayage (MEB), leur structure a été déterminée par la spectre-infrarouge et les phases cristallisées par la diffraction de rayon X. Dans son acception générale, le présent travail vise la valorisation des sous-produits aquacoles, ainsi que la recherche d'autres sources alternatives de ces matériaux polysaccharides.

Mots clés : polysaccharides, valorisation, extraction, chitine, chitosane, sous-produits aquacoles.écailles de Tilapia de Nil

Extraction of polysaccharides from the scales of Tilapia of the Nile

Abstract:

this memory is registered in order to make a recycling of aquaculture by-products to transform them to the primary materials, we made a chemical extraction of the chitineux products from the scales of Tilapia of Nile, by unveiling their characteristics physico -chemically obtained chemically; the degree of acetylation, the degree of depolymerization and the crystallinity index. This work allowed us to determine the morphology of chitin was observed through scanning electron microscopy (SEM), their structure was determined by the infrared-spectrum and the crystallized phases by X-ray diffraction. In its general sense, the present work aims at the valorization of aquaculture by-products, as well as the search for other alternative sources of these polysaccharide materials.

Key words: polysaccharides, valorization, extraction, chitin, chitosan, aquaculture by-products. scales of Nil Tilapia

استخراج متعدد السكريات من خلال منتجات مائية ثانوية

الملخص:

قمنا في إطار هذه المذكرة بتدوير المنتجات الثانوية من المنتجات المائية وذلك لتحويلها الى منتجات أولية، وذلك عن طريق استخلاص الكيماوي لمواد الكيتينية المتواجدة في حراشف السمك البلطي النيلي. وحاولنا التعرف على خصائص الفيزيو-كيميائية للنواتج المتحصل عليها من خلال قياس درجة الأسئلة، درجة التحلل ومؤشر التبلور. سمح لنا هذا العمل من تحديد بنية الكيتين التي تمت ملاحظتها من خلال المكبر المساح الالكتروني، البنية الظاهرية تم التعرف عليها من خلال طيف الأشعة ما تحت الحمراء، اما اطوار البلورة فباننتشار الأشعة Xخاصية هذا العمل تكمن في تامين النواتج الثانوية للمنتجات المائية، وكذا البحث عن مصادر بديلة لهذ النوع من متعددة السكريات.

كلمات مفتاحية: متعدد السكر، تامين، استخراج، كيتين، كيتوزان، منتجات مائية ثانوية، حراشف السمك البلطي النيلي.