

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI-OUZOU



FACULTÉ DES SCIENCES
DÉPARTEMENT DE CHIMIE

Mémoire de Magister en Chimie

Option : Chimie de l'Environnement

Présenté par

M^{elle}TAOUINT AISSA NADJIA

Thème

**PREPARATION DE CHITOSANES À PARTIR DE LA
BIOMASSE MARINE. APPLICATION AU
CONDITIONNEMENT DES BOUES URBAINES**

Devant le jury composé de :

M ^{me} MAZARITassadit	MCA	Université de Tizi-Ouzou	Présidente
M ^{elle} ADOUR Lydia	Professeur	Université d'Alger 1	Rapporteur
M ^{elle} DERMECHE Leila	MCA	Université de Tizi-Ouzou	Examinatrice
M ^{me} MAKHLOUFI Malika	MCA	Université de Tizi-Ouzou	Examinatrice

Soutenu le : 11 / 07/ 2016

REMERCIEMENTS

Ce document présente l'ensemble des travaux de recherche réalisés durant mon mémoire de magister au sein du Laboratoire de chimie de l'environnement. Je tiens à remercier madame *ADOUR Lydia* Professeur à l'université d'alger 1 qu'elle me soit permis, à cette occasion, de lui exprimer ma profonde gratitude et ma très sincère reconnaissance pour son apport scientifique remarquable, ses précieuses directives, sa grande disponibilité, ses fructueux conseils et critiques, ses suggestions pertinentes, son suivi constant, sa courtoisie et ses qualités humaines, et sans lesquels ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.

J'adresse mes chaleureux remerciements à Madame *MAZARI Tassadit*, de m'avoir fait l'honneur de présider le jury.

Mes reconnaissances s'adresse à *M^{me} DERMECHE* et *M^{me} MAKHLOUFI* d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Un grand merci à *Nora* et *Dihia* pour m'avoir accordé de leurs temps et pour leurs contributions précieuses.

J'exprime ma plus vive gratitude à l'ensemble des techniciens de laboratoires de chimie de l'environnement et chimie physique qui m'ont accueillie et fourni le cadre nécessaire à la réalisation de ce travail ;

Mes remerciements s'adressent également à tout le personnel de la station STEP EST de Tizi-Ouzou pour leur accueil chaleureux et leur soutien dans le prélèvement et l'analyse des échantillons.

Au terme de ces remerciements, je souhaiterais rendre hommage aux membres de ma famille, en particulier à ma très chère mère et mes très chers défunts grands parents et père, à qui ce mémoire est dédiée et qui m'ont aidé depuis ma tendre enfance, toujours encouragé à persévérer dans mes études.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à:

Mes très chère parents pour leur encouragements, leurs aide et qui sans aux rien n'aurait été possible

A mon chère frère Abdelkader

A ma chère sœur Nora

A ma chère sœur Zahra et son marie Said

A toute la famille TAQUINT AISSA et OURAIS

A mers adorables amies : Nassima, Sousou, Mimou, Djamila, Ouiza, Lamia, Lynda et Nacéra.

A tous mes ami(e)s que j'aime et que je respecte chacun à son nom

Sommaire

REMERCIEMENTS

DEDICACE

LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX

LISTE DES SYMBOLES

Introduction générale	1
Chapitre I : les co-produits de crustacés et leur valorisation	3
I.1. Introduction.....	3
I.2. Évolution du marché des produits marins, focus sur les crustacés	3
I.3. Définition des crustacés	5
I.4. Composition physico-chimique des crustacés	5
I.5. Pollution des déchets de crustacés dans l'environnement	6
I.6. Valorisation des co-produits de crustacés : Production de la chitine.....	6
Chapitre II : Chitine : Isolation, définition et propriétés	8
II.1. Historique	8
II.2. Définition et structure de la chitine	8
II.3. Sources de chitine	8
II.4. Procédé d'extraction de la chitine	10
II.4.1. Déprotéinisation.....	10
II.4.2. Déminéralisation.....	10
II.4.3. Blanchiment.....	10
II.5. Propriétés	12
Chapitre III : Chitosane : Isolation, définition, caractérisation et propriétés .	13
III.1. Historique	13
III.2. Définition et structure du chitosane.....	13
III.3. Production de chitosane par désacétylation basique	13
III.4. Production de chitosane par la technique enzymatique.....	14
III.5. Caractérisation du chitosane.....	14
III.5.1. Degré de désacétylation (DDA)	15
III.5.2. Viscosité	15
III.5.3 Poids moléculaire	16
III.6. Principales propriétés du chitosane	16

Sommaire

III.6.1. Cristallinité	16
III.6.2 Solubilité	17
III.6.3 Polyélectrolyte en milieu acide	17
III.6.4 Propriétés physico-chimiques	18
III.6.5 propriétés biologiques	18
Chapitre IV : Conditionnement chimique des boues urbaines.....	19
IV. 1. Introduction	19
IV .2. Epuration des eaux usées et traitement des boues	19
IV.2.1. Epuration des eaux usées	19
IV.2.1.1 Définition d'une eau usée	19
IV.2.1.2 Description d'une station d'épuration.....	19
IV.2.2. Traitement des boues	20
IV.2.2.1.Epaississement des boues.....	21
IV.2.2.2 Conditionnement des boues	21
IV.2.2.a Conditionnement thermique.....	21
IV.2.2.2.b Conditionnement chimique	21
IV.2.2.3. Stabilisation des boues	23
IV.2.2.4. Déshydratation des boues.....	23
IV.2.2.4.1 La filtration sous vide	23
IV.2.2.4.2. Les filtres presses	23
IV.2.2.4.3. La centrifugation	24
IV.2.2.5. Séchage des boues.....	26
Chapitre V : Matériel et Méthodes.....	27
V .1. Matériel	27
V.1.1. Solutions et réactifs	27
V.1.2. Matériel biologique	27
V.1.3. Appareillages.....	27
V.2. Méthodes expérimentales et analytiques	28
V.2.1. Préparation du chitosane à partir des carapaces de crevettes <i>Parapenaeuslongirostris</i>	28
V.2.1.1. Obtention de la carapace brute	28
V.2.1.2. Obtention de chitosanes.....	28

Sommaire

V.2.1.3. Analyses physico-chimiques de la carapace brute et de la carapace déminéralisée.....	31
V.2.1.4. Caractérisation des chitosanes préparés	32
V.2.2. Application des chitosanes dans le conditionnement des boues urbaines.....	36
V.2.2.1. Origine des boues utilisées	36
V.2.2.2. Analyses physico-chimiques des boues et des filtrats.....	39
V.2.2.3. Conditionnement et déshydratation biologique des boues.	40
Chapitre VI : Résultats et discussion	41
VI.1. Efficacité des protocoles d'isolation du chitosane	41
VI.1.1. Perte de masse durant la déminéralisation-lavage-filtration	41
VI.1.2. Estimation de la quantité d'eaux de lavage des carapaces traitées	41
VI.1.3. Caractérisation physico-chimique des carapaces	42
VI.1.4. Test de solubilité	43
VI.1.5. Caractérisation par FTIR et MEB, de la structure de la carapace brute et des carapaces traitées avec une désacétylation à température fixe de 30°C	44
VI.1.5.1. Carapace brute (CB).....	44
VI.1.5.2. Carapace brute déminéralisée (CBDM)	48
VI.1.5.3. Carapace brute déminéralisée et désacétylée à 30°C et à différents temps	50
VI.1.5.4. Carapace brute désacétylée à 30°C et à différents temps.....	57
VI.1.6. Caractérisation de la structure par FTIR de la carapace brute et des carapaces traitées avec une désacétylation à température ambiante (20±3°C).....	63
VI.1.7. Détermination de DDA des chitosanes par différentes méthodes.....	64
VI.1.8. Détermination de l'indice de cristallinité des chitosanes par FTIR	66
VI.1.9. Détermination du poids moléculaire des chitosanes par viscosimétrie.....	66
VI.2. Application des chitosanes dans le conditionnement des boues de la STEP Est de la ville de Tizi-Ouzou	67
VI.2.1. Caractérisation physico-chimique des boues	68
VI.2.2. Etude du conditionnement et de la déshydratation	66
VI.2.2.1. Influence de la dose des flocculants sur la siccité du gâteau	69
VI.2.2.2. Influence de dose de flocculants sur le volume du filtrat	70
VI.2.2.3. Influence de la dose de flocculants sur la turbidité et les MES du filtrat	71
VI.2.2.4. Influence de la dose de flocculants sur le pH du filtrat.....	72

Sommaire

Conclusion générale..... 74

Références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

[η] : Viscosité intrinsèque

η_{inh} : Viscosité inhérente

η_{red} : Viscosité réduite

η_{sp} : Viscosité spécifique

μm : micromètre ;

a : Constante de Mark-Houwink

AA : Acide acétique.

CB : Carapace brute

CBDA7jT30 : carapace brute désacétylée 7 jours à température 30°C

CBDA11jT30 : carapace brute désacétylée 11 jours à température 30°C

CBDA16jT30 : carapace brute désacétylée 16 jours à température 30°C

CBDA22jT30 : carapace brute désacétylée 22 jours à température 30°C

CBDA25jT30 : carapace brute désacétylée 25 jours à température 30°C

CBDM : Carapace brute déminéralisée

CBDMDA7jT30 : carapace brute déminéralisée désacétylée 7 jours à température 30°C

CBDMDA11jT30 : carapace brute déminéralisée désacétylée 11 jours à température 30°C

CBDMDA16jT30 : carapace brute déminéralisée désacétylée 16 jours à température 30°C

CBDMDA22jT30 : carapace brute déminéralisée désacétylée 22 jours à température 30°C

CBDMDA25jT30 : carapace brute déminéralisée désacétylée 25 jours à température 30°C

CBDM* : carapace brute déminéralisée (série désacétylée à Tambiante)

ChitosCom (Fluka): Chitosane commerciale Fluka

DA: Degré d'Acétylation ;

DBO5 : Demande Biologique en Oxygène pendant cinq jours

DCO : Demande Chimique en Oxygène

DDA: Degree De Desacétylation ;

FTIR : Fourier Transformed InfraRed spectroscopy

FTU : Formazin Turbidity unit

g : gramme ;

h : heures

IR : Infra Rouge (Infra Red)

I_{cr} : Indice de cristallinité

j : jour ;

KDa : Kilo Dalton

k : Constante de Mark-Houwink

l : litre ;

M : Masse molaire

MEB : Microscopie électronique à balayage

MES : Matières En Suspension ;

mg : milligramme

Mg de chitosane/ g de MS : milligramme de chitosane par gramme de matière sèche.

MH : Masse (matière) Humide

ml: millilitre

mm: millimètre ;

MS : Masse (matière) Sèche

MVS : Matière Volatile sèche

PH: potentiel hydrogène ;

PM : Poids Moléculaire

Sc : Siccité

STEP : Station d'épuration.

t : Temps (sec)

T: température

tpm: tour par minute ;

ua : Unité d'absorbance

V : volume

Listes des figures

Chapitre I

Figure I.1 : Répartition de la consommation moyenne de produits marins par habitant de 2003 à 2005.....	4
--	---

Chapitre II

Figure II.1 : Représentation générale de la chitine comme copolymère de glucosamine et N-acétylglucosamine.....	9
Figure II.2 : Principales étapes d'extraction de la chitine et sa transformation en chitosane (Onsoyen et al. 1990).....	11

Chapitre III

Figure III.1 : Structure chimique de la chitine désacétylée.....	13
---	----

Chapitre VI

Figure IV.1 : Phénomène de coagulation-floculation	23
Figure IV.2 : Exemple de filtre presse	25

Chapitre V

Figure V.1. : Description des protocoles A et B de préparation des chitosanes à partir des crevettes blanches <i>Parapenaeus longirostris</i>	30
Figure V.2 :Schéma général de la station d'épuration des eaux usées (STEP Est de Tizi-Ouzou, 2014)	38

Chapitre VI

Figure VI.1 : Spectre FTIR (a) et micrographie (b) de la carapace brute (CB)	46
Figure VI.2 :Spectre FTIR de la chitine commerciale (Sigma Aldrich)	47
Figure VI.3 :Spectre FTIR de la calcite (Riedel de haenagseezehannover)	47
Figure VI.4 : Spectre FTIR (a) et micrographie de la carapace brute déminéralisée (CBDM).....	49
Figure VI.5 :Spectre FTIR (a) et micrographie (b) de la carapace déminéralisée et désacétylée pendant 7 jours à T=30°C (CBMDA7jT30).....	51
Figure VI.6 : Spectre FTIR (a) et micrographie de la carapace brute déminéralisée et désacétylée pendant 11 jours à T=30°C (CBDM11jT30)	52
Figure VI.7 :Spectre FTIR (a) et micrographie (b) de la carapace déminéralisée et désacétylée pendant 16 jours à T=30°C (CBMDA16jT30)	53
Figure VI.8 :Spectre FTIR (a) et micrographie (b) de la carapace déminéralisée et désacétylée pendant 22 jours à T=30°C (CBMDA22jT30)	54
Figure VI.9 :Spectre FTIR (a) et micrographie (b) de la carapace déminéralisée et désacétylée pendant 25 jours à T=30°C (CBMDA25jT30)	55

Listes des figures

Figure VI.10: Spectre FTIR (a) et micrographie (b) du chitosane commercial (Sigma Aldrich)	56
Figure VI.11 : Spectre FTIR (a) et micrographie (b) de la carapace désacétylée pendant 7 jours à T=30°C (CBDA7jT30)	58
Figure VI.12 : Spectre FTIR (a) et micrographie (b) de la carapace désacétylée pendant 11 jours à T=30°C (CBDA11jT30)	59
Figure VI.13: Spectre FTIR (a) et micrographie (b) de la carapace désacétylée pendant 16 jours à T=30°C (CBDA16jT30)	60
Figure VI.14: Spectre FTIR (a) et micrographie (b) de la carapace désacétylée pendant 22 jours à T=30°C (CBDA22jT30)74	
Figure VI.15: Spectre FTIR (a) et micrographie (b) de la carapace désacétylée pendant 25 jours à T=30°C (CBDA25jT30)	61
Figure VI.16 : Spectre FTIR de la carapace brute déminéralisée (CBDM*)	62
Figure VI.17 : Evolution de la siccité du gâteau en fonction de la dose et pour les différents flocculantsCBDMDA7jT30; CBDA7jT30 et ChitosCom.....	64
Figure VI.18 : Evolution du volume du filtrat en fonction de la dose pour les différents flocculantsCBDMDA7jT30; CBDA7jT30 et ChitosCom.....	71
Figure VI.19 : Evolution de la turbidité du filtrat en fonction de la dose pour les différents flocculantsCBDMDA7jT30; CBDA7jT30 et ChitosCom.....	71
Figure VI.20 : Evolution des MES du filtrat en fonction de la dose pour les différents flocculantsCBDMDA7jT30; CBDA7jT30 et ChitosCom	72
Figure VI.21 : Evolution du pH de filtrat en fonction de la dose pour les différents flocculantsCBDMDA7jT30; CBDA7jT30 et ChitosCom.....	73
Liste des photos	
Photo V.1 : Prélèvement de boues à la sortie de l'épaississeur de la STEP est de la ville de Tizi-Ouzou	37
Photo V.2 : Essai de coagulation-floculation	40
Photo V.3 : Déshydratation des boues conditionnées	40

Liste des tableaux

Chapitre I

Tableau I.1 : La composition des carapaces de quelques crustacés (Keddou, 2008).....5

Chapitre II

Tableau II.1 :Sources potentielles de chitine (Crini et al. 2009)9

Chapitre IV

Tableau IV.1 : Différentes techniques de déshydratation par filtre-presse (Amorce, 2012) 26

Chapitre VI

Tableau VI.1 : Calcul de la perte de masse après déminéralisation-lavage-filtration de la carapace brute..... 41

Tableau VI.2 : Quantification des eaux de lavage dans le protocole A d'isolation du chitosane..... 42

Tableau VI.3 : Quantification des eaux de lavage dans le protocole B d'isolation du chitosane..... 42

Tableau VI.4 :Caractérisation physico-chimique des carapaces 43

Tableau VI.5 :Test de solubilité des carapaces brutes déminéralisées et désacétylées à différents temps et à T=30°C..... 44

Tableau VI.6 :Test de solubilité des carapaces brutes désacétylées à différents temps et à T=30°C 44

Tableau VI.7 : Les principales bandes caractéristiques de l' α -chitine 45

Tableau VI.9a :Les valeurs de DDA des échantillons préparés selon le protocole A..... 65

Tableau VI.9b :Les valeurs de DDA des échantillons préparés selon le protocole B..... 65

Tableau VI.10a :Les valeurs de I_{cr} des échantillons préparés selon le protocole A 66

Tableau VI.10b : Les valeurs de I_{cr} des échantillons préparés selon le protocole B 66

Tableau VI.11a : Les valeurs de PM des échantillons préparés selon le protocole A..... 67

Tableau VI.11b :Les valeurs de PM des échantillons préparés selon le protocole B..... 67

Tableau VI.12 : Caractéristiques physico-chimiques de la boue épaissie (prélevée en mai 2014, STEP Est de Tizi-Ouzou)..... 68

Introduction générale

Introduction générale

Avec le développement rapide de l'industrie moderne, la contamination de l'environnement est devenue de plus en plus grave. Les rejets des polluants restent un problème sérieux dans plusieurs pays du monde. Pour l'élimination du potentiel de perturbation environnementale dans une perspective de développement durable, la dépollution des eaux et la valorisation des résidus industriels sont des objectifs importants pour des pays industriels et des pays en voie de développement.

Les biomasses marines et leur diversité constituent un ensemble de ressources exploitables et valorisables, utiles pour l'homme. Les océans, produisent une biomasse bien supérieure à celle provenant des terres émergées, mais seule une partie minime, issue des activités de pêche est directement exploitable. Cela représente tout de même, près de 85 millions de tonnes de produits divers (poissons, mollusques, crustacés, etc..) prélevé par an (**FAO, 2007**). Environ 10% de captures globales des produits aquatiques sont des organismes riches en matière chitineuse (10 à 55% en poids sec). Plus de 80 000 tonnes/an de chitine sont obtenus à partir des rejets marins (**Patil et al., 2000**). La chitine est une fibre naturelle, dans sa forme originale elle n'est d'aucune utilité. Toutefois, après transformation, le chitosane obtenu trouve des applications intéressantes.

Le chitosane est un polysaccharide cationique naturel, formé d'unités D-glucosamine et N-acétyl-D-glucosamine, et dérivé par désacétylation de la chitine ce dernier représente le deuxième polymère naturel très abondant dans la nature et grandement similaire à la cellulose. Le chitosane est l'un des candidats parmi les nombreux polymères les plus prometteurs. Ses propriétés uniques sont dues à la présence de groupements amine primaire.

Depuis plus d'une dizaine d'années, l'utilisation du chitosane a touché plusieurs domaines de la pharmacie, à l'agroalimentaire en passant par l'environnement, l'agriculture, le textile, la papeterie et les cosmétiques. Cette substance est une ressource naturelle, renouvelable, biodégradable et non toxique. Elle possède diverses propriétés : filmogènes, biologiques, antifongiques, de rétention de l'eau et coagulante-floculante. Cette dernière permet au chitosane de substituer efficacement les produits chimiques dans les domaines de traitement des eaux et en particulier le traitement des boues issues des stations d'épuration des eaux usées.

Le procédé de fabrication commerciale de la chitine et du chitosane a été décrit par Onsoyen et (**Skaugrud ,1990**). Il comprend 04 étapes : la déprotéinisation en milieu alcalin pour l'extraction des protéines, la déminéralisation en milieu acide pour la solubilisation des

Introduction générale

carbonates de calcium, la décoloration en présence d'un agent oxydant pour l'élimination des pigments et enfin, la désacétylation en milieu basique de la chitine extraite des 03 étapes précédentes pour obtenir du chitosane. Il a été constaté que les 04 étapes de la méthode traditionnelle influencent la qualité du produit final, le chitosane. En effet, des conditions de désacétylation trop drastiques (température élevée 100 à 110°C) ou trop douces permettent d'expliquer parfois la difficulté d'obtenir de manière reproductible des produits de composition prédéterminée. En plus, les caractéristiques de différents lots de chitine peuvent varier considérablement en raison des conditions expérimentales choisies qui peuvent être sensiblement différentes. Dans ce contexte, nous apportons une nouvelle façon de produire directement du chitosane sans extraction de la chitine. Il s'agit de réduire le nombre d'étapes à 02 (démminéralisation suivie de la désacétylation) ou 01 seule (la désacétylation). Afin d'éviter une dégradation physique du biopolymère (avec une chute importante de la masse moléculaire et/ou une oxydation des extrémités réductrices des chaînes polymériques) et pour le respect et la protection de l'environnement contre l'utilisation en excès des produits chimiques toxiques et polluants, des conditions douces de désacétylation ont été proposées : 40% de NaOH au lieu de 40 à 60% et une température avoisinante l'ambiant. Pour cela, 02 valeurs ont été choisies : $T_{am} = 20 \pm 3^\circ\text{C}$ et 30°C et pour chacune d'elles, des cinétiques de désacétylation pendant 35 jours ont été suivies sur des carapaces récupérées des crevettes *Parapenaeus longirostris* pêchées sur le littoral d'Azzefoun de la wilaya de Tizi-ouzou. Avec et sans déminéralisation au préalable, la caractérisation par spectroscopie FTIR et micrographie MEB a été effectuée afin de choisir le meilleur chitosane pouvant être testé dans la coagulation-floculation des boues urbaines de la STEP est de la ville de Tizi-Ouzou. L'objectif fixé, dans ce mémoire est de démontrer la capacité que possède le chitosane préparé à améliorer la déshydratation des boues par augmentation de la siccité du gâteau.

Ce mémoire est présenté en 03 grandes parties. La 1^{ère} est dédiée à une brève présentation de la bibliographie relative à la production des déchets de crustacés et leur valorisation, à la définition de la chitine et de son 1^{er} dérivé le chitosane et l'utilisation de ce dernier dans le traitement des boues urbaines par conditionnement-déshydratation. La 2^{ème} partie présente le matériel et les méthodes opératoires et analytiques d'obtention du chitosane à partir des crevettes blanches *Parapenaeus longirostris* dans des conditions douces. La dernière partie est consacrée à la présentation des résultats ainsi qu'aux interprétations suivie d'une conclusion générale.

Chapitre I

Les co-produits de crustacés et leur valorisation

I.1. Introduction

Le marché des fruits de mer, dans le monde, est en effervescence depuis une dizaine d'années et celui de la crevette suit la tendance. Malgré les quotas imposés sur plusieurs espèces, l'aquaculture parvient à combler cette forte demande. Mais la gestion des déchets marins est problématique. Dans le cas de la crevette, c'est plus de 75% de son poids qui est rejeté, soit l'équivalent de plus de 16 000 tonnes par année au Québec seulement (MAPAQ, 2004). La gestion de ces déchets engendre des coûts qui se répercutent sur le rendement des entreprises de transformation.

Les solutions actuelles de la gestion des déchets de crevettes sont multiples (Amec, 2003). Certaines entreprises préconisent tout simplement l'enfouissement ou la calcination, transformation en compost, la transformation des carapaces de crevettes utilisée dans l'alimentation animale est une autre méthode.

En dernier recours, l'usine rejette ses déchets directement à la mer engendrant une pollution organique non désirée.

La récupération de la chitine est une autre voie qui semble être plus profitable, car ce composé peut être transformé en chitosane qui possède une bonne valeur commerciale.

I.2. Évolution du marché des produits marins, focus sur les crustacés

Le marché des produits aquatiques ne cesse d'augmenter à l'échelle internationale. La forte hausse de la demande est principalement liée à l'augmentation de la consommation humaine. Elle représenta 0,7 Kg par habitant en 1970 tandis qu'elle a atteint 7,8 Kg par habitant en 2008, soit une augmentation de 6,6 % par an (FAO, 2010).

La consommation de produits marins est inégalement répartie sur la surface de la planète, comme le montre la figure I.1 (FAO, 2008).

Cette répartition inégale est le reflet de valeurs traditionnelles et culturelles, de la disponibilité en ressources marines et de critères socio-économiques. La consommation est la plus élevée au Groenland et au Japon. Elle est la plus faible en Afrique. Elle est importante en Asie-Indonésie-Océanie, en Europe Occidentale, en Amérique du Nord, Centrale et sur la côte chilienne.

Avec une production totale de 6 millions de tonnes en 2006, la crevette constitue le produit le plus valorisé sur le marché mondial des produits de la mer, pêche et aquaculture confondues (FAO, 2009).

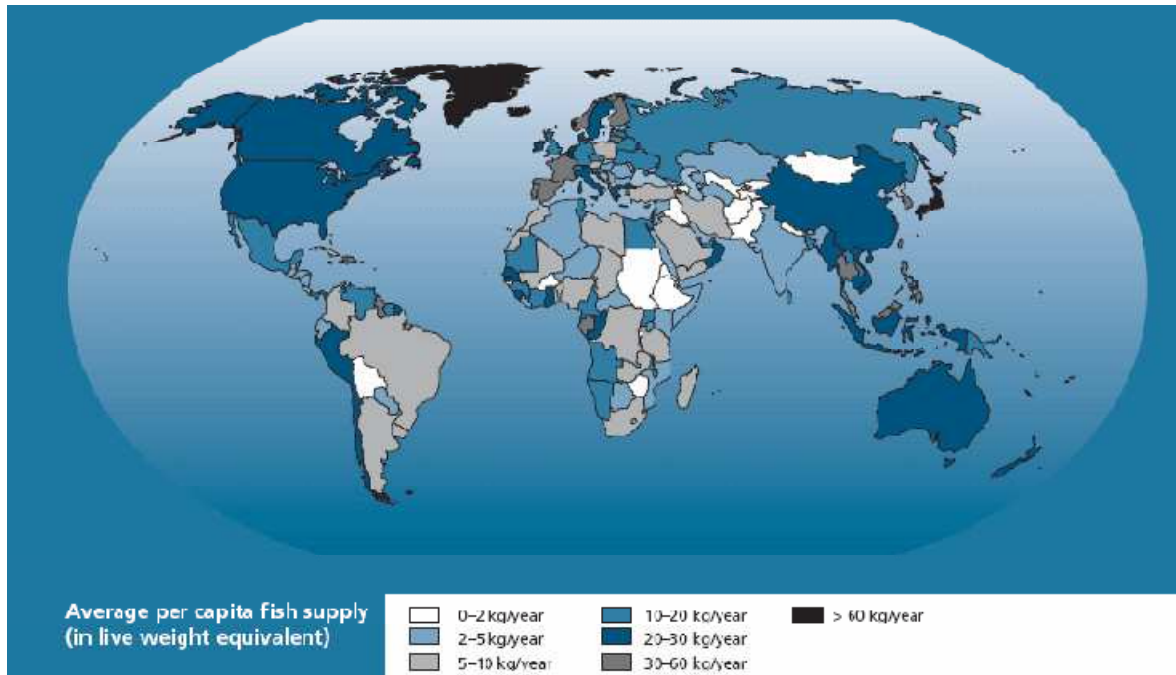


Figure I.1 : Répartition de la consommation moyenne de produits marins par habitant de 2003 à 2005

Destinée en sa totalité à l'alimentation humaine, la partie comestible représente près de 60% du poids de la crevette entière. Une grande partie de la production fait alors l'objet d'une transformation industrielle telle que l'étêtage et le décorticage. Cette transformation génère des co-produits (têtes, carapaces et queues) dont le devenir pose des problèmes aux industriels. La majeure partie est rejetée, soit directement dans l'environnement, ce qui présente des risques pour la pollution et la santé.

Cependant, ces déchets renferment plusieurs substances méritant d'être valorisées : on peut citer entre autres protéines, lipides, chitine, astaxanthine et éléments minéraux (Heu *et al.*, 2003). La valorisation des co-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. Compte tenu de la nature des substances qu'ils renferment, ils peuvent être utilisés pour la nutrition humaine et animale, la nutraceutique et la pharmaceutique, la cosmétique...

Chapitre I : Les coproduits de crustacés et leur valorisation

I.3. Définition des crustacés

Les crustacés sont de la famille des arthropodes, généralement aquatique, à respiration branchiale, et dont la carapace est formée imprégnée de calcaire. Les crustacés habitent pour la plupart la mer : crabes, crevettes, langoustes, homards, langoustines, mais on trouve aussi en eau douce certaines espèces de crevettes et de crabes, ainsi que les écrevisses (**Collomb et Mayor, 2007**).

I.4. Composition physico-chimique des crustacés

Les carapaces des crustacés sont riches en chitine, en protéines, en carbonate de calcium (CaCO_3) et autres tels que les métaux (zinc et cuivre). Ils contiennent, également, des vitamines du groupe B. Ils sont pauvres en graisse, mais ils contiennent du cholestérol. (**Collomb et Mayor, 2007**).

Avec la présence de protéines dans les co-produits de crevette, ces derniers représentent une potentielle source d'acides aminés essentiels nécessaires pour le bon déroulement de l'organisme vivant, et de peptides à activités biologiques. Leur valorisation constitue une voie intéressante pour l'amélioration de la nutrition, directement par leur utilisation en alimentation humaine, ou indirectement par l'alimentation animale.

Les trois constituants majoritaires (chitine, protéines et carbonate de calcium), forment un réseau dense. La chitine y joue plusieurs rôles structurels et fonctionnels vitaux. Elle forme une barrière physique entre le corps de l'organisme et son environnement (**Le Roux, 2012**).

Dans le tableau I.1, il est regroupé la composition des carapaces de quelques crustacés

Tableau I.1 : La composition des carapaces de quelques crustacés (**Keddou, 2008**)

Composition	Déchets (carapace des crevettes)(%)	Déchets (tête des crevettes) (%)	Déchets de langoustes(%)	Déchets de crabes (%)
Chitine	27	13.5-17.5	11-15	13-15
Protéines totales	40	28-37.5	20-44	30-35
Protéines libres	28	20-26	/	18-28
Cendre(CaCO_3)	33	25-27	40	50

I.5. Pollution des déchets de crustacés dans l'environnement

Environ 70% de la pêche marine sont utilisés pour l'industrie alimentaire, ce en résulte une quantité considérable de déchets (**Kim et Mendis , 2006**). Les rejets dépassent 20 millions de tonnes par an, qui est l'équivalent de 25% de la production annuelle totale. Pour les crustacés, les déchets représentent environ 45% en poids des coquilles, tête jetées, thorax, et griffe (**Nwe et al., 2011**).

En raison de leur nature hautement périssable, les déchets chitineux sont considérés comme dangereux une fois disposés dans la nature (**Nwe et al., 2011**). Dans la mer, les déchets chitineux conduit rapidement à l'eutrophisation et peut fortement augmenter la demande en oxygène (DBO₅). Tandis que sur terre, ces déchets sont rapidement colonisés par des organismes et des agents pathogènes provoquant des altérations environnementales (**Islam et al., 2004, Beaney et al., 2005**).

La valorisation et l'exploitation des déchets d'industrie de la pêche, principalement les produits chitineux, seraient aussi un moyen de réduction du volume des déchets et une mesure de protection de l'environnement aquatique.

I.6. Valorisation des co-produits de crustacés : Production de la chitine

Les co-produits marins sont définis comme les parties non utilisées et récupérables, lors des opérations traditionnelles de production. Il s'agit des peaux, arêtes, têtes, queues ou carapaces. Leur valorisation n'est pas une préoccupation récente. Ils font l'objet d'une attention particulière du fait de la valeur ajoutée qu'ils apportent aux procédés industriels classiques (**Le Roux, 2012**).

Les principaux producteurs de la chitine sont les états-unis, le canada, l'inde et le japon. Le japon reste leader tant en termes de production, que de commercialisation et de consommation. Le nombre de producteurs de taille significative dans le monde est estimé à une quinzaine de sociétés, dont trois en Europe (**Crini et al., 2009**).

Pour la plupart des applications, la chitine n'est pas utilisée directement. Elle est convertie, principalement, en chitosane et en chito-oligosacaride. La production de chitine était de l'ordre de 10000 tonnes en 2000, dont près de 6667 tonnes pour la fabrication de glucosamine, 2667 pour le chitosane et 1000 tonnes pour les oligosaccharides (**Kurita, 2006**).

Chapitre I : Les coproduits de crustacés et leur valorisation

Universellement, des millions de tonnes de chitines sont récoltés annuellement (**Rha et al., 1984, Fernandez et al., 2004**). En 2006, le marché de la chitine n'a cessé de croître, la production était de l'ordre de 25000 tonnes dont près de 8000 tonnes pour sa conversion en chitosane (**Kurita, 2006**).

Chapitre 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 ; Rolland, Mumper, 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, Signini, 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 pharmacutique, 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 (**Einbu, 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 enchainement d'unité monomère N-acétyle- β -D-glucopyranose reliées par une liaison glycosurique β -(1-4) (Figure II .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.

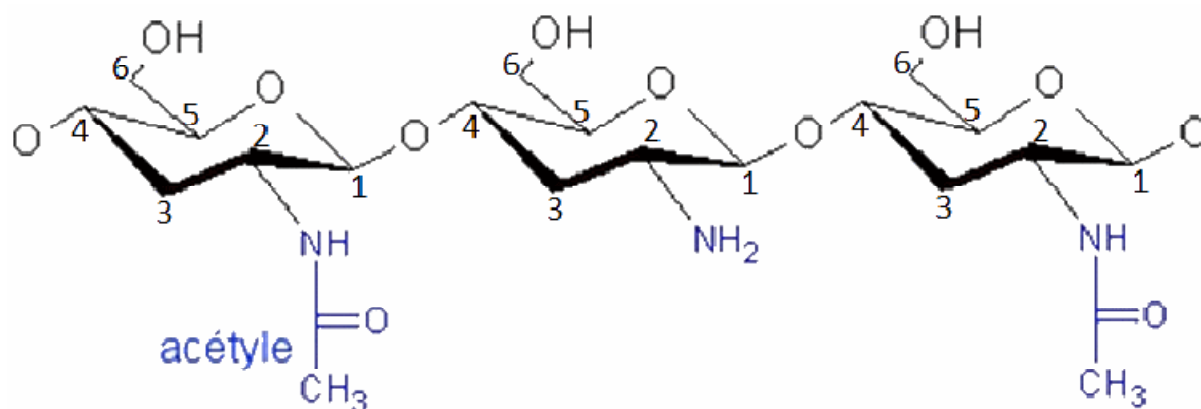


Figure II.1 : Représentation générale de la chitine comme copolymère de glucosamine et N-acétylglucosamine

Bien que les sources potentielles de chitine soient très nombreuses (Tableau II.1), elle est essentiellement produite aujourd'hui à partir des carapaces de crevette, (**Shahidi et Abuzaytoun, 2005**).

Tableau II.1 : Sources potentielles de chitine (**Crini et al. 2009**)

Sources	Sites de présence	Teneur en chitine (en %)
Arthropodes : <ul style="list-style-type: none"> • Crustacés (crevette) • Insectes • Arachides 	Exosquelettes, cuticules membranes	2-72
Mollusque : <ul style="list-style-type: none"> • Seiche • Pieuvres /calmars 	Coquilles, stomacales, dents, plaques, plumes,	6-40
Polyplacophores	Tube	33
Cnidaires	Capsules d'œufs, membrane	3-30
Annélides <ul style="list-style-type: none"> • 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 col.,2003**).

De manière générale, elles consistent à éliminer les protéines (déprotéinisation), les éléments minéraux (déminéralisation) et la couleur (décoloration et blanchiment) (**Kim, 2011**) (Figure II.2).

II.4.1. Déprotéinisation

A l'état naturel, la chitine se présente en association avec les protéines (chitino-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.4.2. 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.4.3. Blanchiment

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,

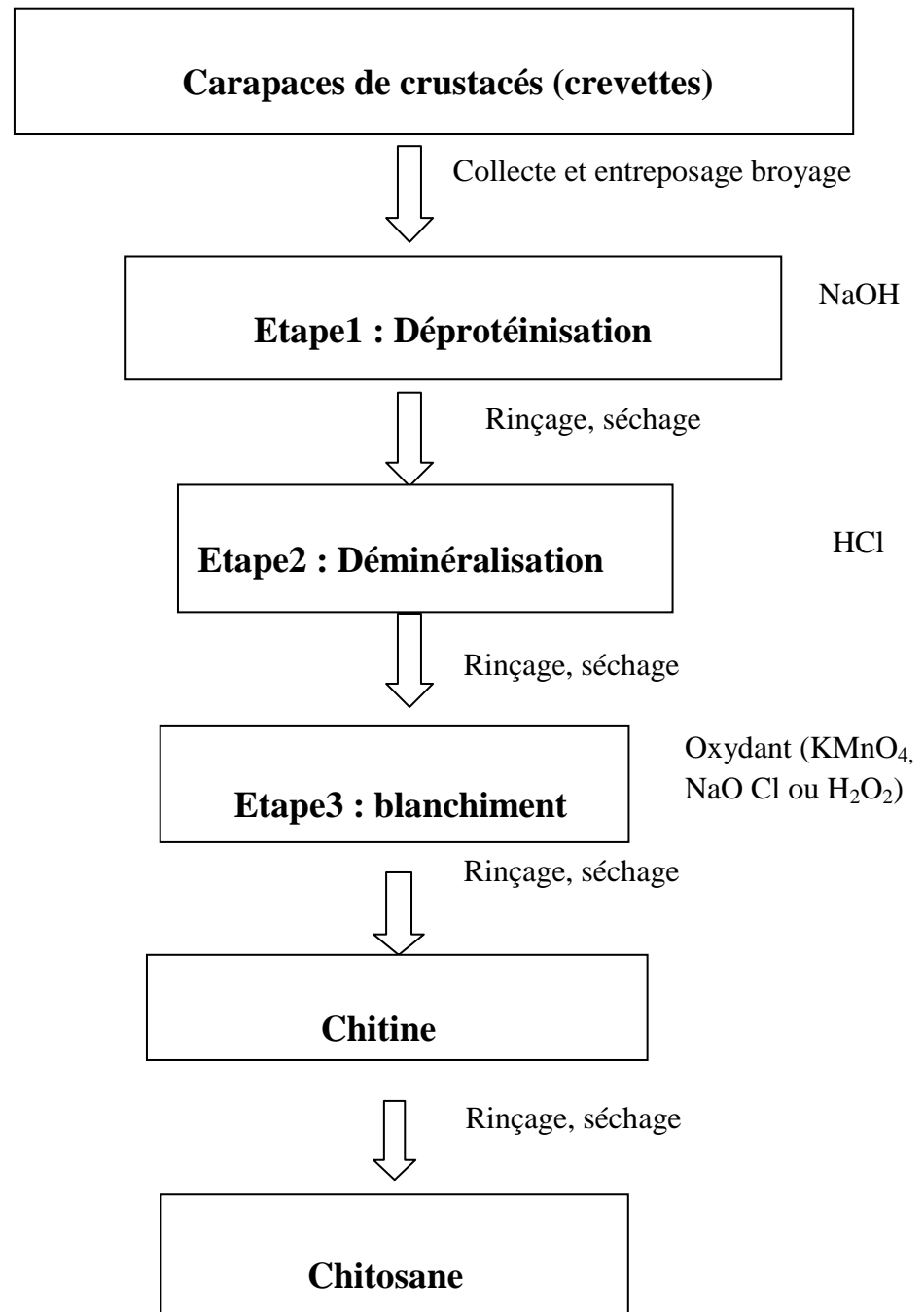


Figure II.2 : Principales étapes d'extraction de la chitine et sa transformation en chitosane (Onsoyen et al. 1990)

comme les caroténoïdes. Durant le processus de blanchiment, le réactif utilisé ne doit pas avoir un effet négatif sur les propriétés physico-chimiques de chitine.

II.5. Propriétés

La chitine est un agent remarquable de chélation et biodégradable grâce aux enzymes, la chitinase et la chitosanase 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.

Chapitre III

Chitosane : Isolation, définition, caractérisation 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 du chitosane

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

Dans la nature, le chitosane est rare. Il est présent uniquement dans les parois cellulaires de certains micro-organismes fongiques (champignons, zygomycètes) (Juang 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).

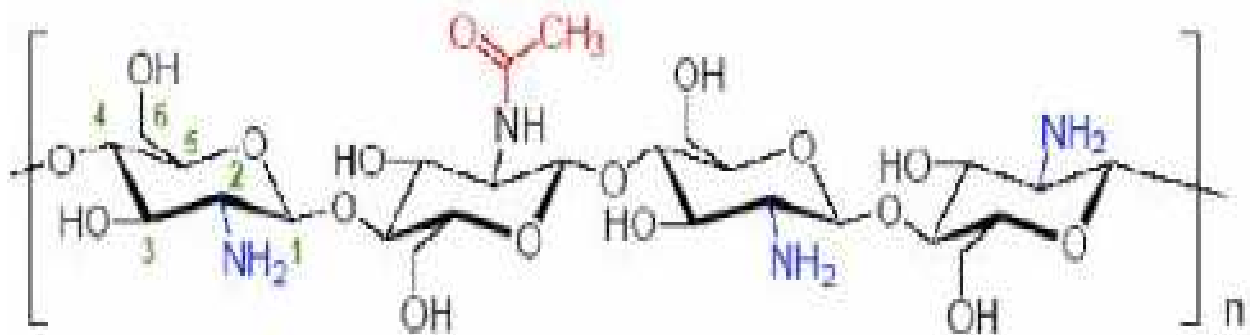


Figure III.1 : Structure chimique de la chitine désacétylée

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 chitosanes 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 Mayers, 1995).

Le rendement de desacétylation 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 du 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 desacétylation suffisante. Ceci permet d'expliquer parfois la difficulté d'obtenir de manière reproductible des produits de composition prédéterminée.

III.4. Production de chitosane par la technique enzymatique

L'utilisation de Protéases d'isolat bactérien a été rapportée par (Tsai et coll. 2002) qui ont utilisé une protéase bactérienne de *Pseudomonas maltophilia* pour la déprotéinisation non alcaline de la chitine. Après 24 heures, la teneur en protéines résiduelle dans la carapace a été d'environ 1%. De même, une protéase de *Bacillus* spa. *TKU004* était employée à des conditions optimisées de 2% de bouillie de la poudre des plumes de calmars (Wang et al, 2006). La déprotéinisation était de 63% après la deuxième journée et est arrivée à 73% après le troisième jour.

La fermentation avec des bactéries produisant des enzymes protéolytiques et chitinolytiques a été utilisée comme une alternative (Jung et al, 2005). La fermentation à l'acide lactique pour l'extraction de la chitine à partir des déchets des crevettes (Adour et al, 2008), d'exosquelette d'écrevisse (Bautista et al. 2001), par *Lactobacillus paracasei* ou une combinaison des acidophiles L., *Enterococcus faecium*, et *Pediococcus acidilactici*, a donné une chitine à faible qualité (Beaney et al., 2005). La fermentation lactique pour la désacétylation a donné un chitosane ayant les mêmes propriétés physico-chimiques que celles du chitosane chimiquement extrait (Beaney et al, 2005).

III.5. 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.5.1. 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**).

DD 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 du chitosane utilisés est donc une étape indispensable avant l'évaluation de leurs capacités

Le degré de désacétylation, quant à lui, 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 DDA du chitosane, est la spectroscopie IR proposée pour la première fois par (**Moore et Roberts en 1980**).

III.5.2. 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**) (Chapitre V).

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) (Felt 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.5.3 Poids moléculaire

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 et est la plus couramment utilisée pour la détermination du poids moléculaire du chitosane ainsi que de sa polydispersité (Mikahlia, 2007). Par ailleurs, la viscosimètre demeure une méthode simple et rapide (Felt 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 (Felt et al., 1999).

III.6. Principales propriétés du chitosane

III.6.1. 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.6.2 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.6.3 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 (Tableau III.2). 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.6.4 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 : (i) 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 ; (ii) à la présence de groupements hydroxyle, acétamide et amine dotés d'une grande réactivité ; (iii) 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 complexation et d'adsorption de molécules ou de polymères (**Kurita, 2006**).

II.6.5 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 structure des matrices extracellulaires de la plupart des tissus vivants. Le chitosane est non toxique et biodégradable. 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**).

Chapitre IV
Conditionnement chimique
des boues urbaines

IV.1. Introduction

Quelque soit le procédé utilisé pour le traitement des eaux usées, on obtient une certaine quantité de matières solides décantables, dans lesquelles on trouve des matières minérales inertes et des matières organiques fermentescibles sur lesquelles sont adsorbés des sels minéraux et une partie des microorganismes (bactéries, virus, parasites). Ces substances sont séparées de l'eau et forment une boue à forte teneur en eau, biologiquement instable (Tixier, 2003). En pied de décanteur, les boues contiennent, plus de 95% d'eau pour les boues primaires et plus de 99% d'eau pour les boues secondaires. Les différentes étapes du traitement des boues ont pour but leur stabilisation et leur concentration par déshydratation (Penaud et al, 2000)

IV.2. Epuration des eaux usées et traitement des boues

Les boues sont composées d'éléments recueillis à différents stades de l'épuration d'une eau usée: les matières minérales en suspension, les matières organiques non biodégradables et les microorganismes, ces derniers résultant de l'épuration biologique.

Parmi les boues, on distingue les boues urbaines et les boues industrielles. Les premières sont produites dans les stations d'épuration traitant des effluents dits 'urbains', c'est-à-dire majoritairement des eaux usées d'origine domestique. Les secondes sont issues du traitement d'eaux usées industrielles. Ces eaux sont, le plus souvent, traitées directement en aval de leur production. Dans ce travail, nous nous préoccupons uniquement des boues urbaines. Le paragraphe suivant explique à quel moment et de quelle manière ces boues sont produites au cours de l'opération d'épuration (Léonard, 2002).

IV.2.1. Epuration des eaux usées

IV.2.1.1. Définition d'une eau usée

Une eau usée est une eau qui a été utilisée. Sa pollution peut résulter de nombreux facteurs: rejets domestiques divers, ruissellement et infiltration. Cette pollution peut être quantifiée par des caractéristiques physiques (MES, odeur,...), chimiques (DCO, DBO₅, azote minéral, teneur en phosphate, teneur en matières toxiques,...) et biologiques (bactéries, virus,...) (DGRNE, 1999).

IV.2.1.2. Description d'une station d'épuration

Une eau usée est traitée dans une station d'épuration dite STEP. Les opérations rencontrées sont:

Pré-traitement: comporte un dégrillage, un dessablage et un déshuilage.

Traitement primaire: il se limite à des opérations de séparation liquide-solide et liquide-liquide comme la décantation gravitaire et la flottation.

Traitement secondaire : il est essentiellement biologique et a pour but la dégradation des matières organiques dites biodégradables. L'assimilation de ces matières organiques par une flore de microorganismes (essentiellement les bactéries) produit des composés gazeux d'une part et de la biomasse (croissance cellulaire) d'autre part. Si la biomasse produite dite : boue secondaire se trouve en excès, une partie doit être recyclée vers le bassin biologique afin d'assurer la continuité de l'épuration et le reste est envoyé pour le traitement ou pour l'incinération.

On distingue, essentiellement, trois types de procédés dans le traitement biologique: les procédés à décantation interne (lagunage), les procédés à biomasse fixée (lits bactériens, biodisques et biofiltres), et les procédés à recyclage de biomasse. Ces derniers, mieux connus sous le nom de procédés à boues activées, sont les plus répandus dans le monde (**Nguyen et al, 2008**). C'est de ce type de procédé dont sont issues les boues étudiées dans le présent travail.

Un procédé à boues activées comprend :

- Un bassin d'aération dans lequel l'eau à épurer est mise en contact avec la biomasse ;
- Un dispositif de brassage et d'aération ;
- Un décanteur (secondaire) dans lequel s'effectue la clarification des eaux ou l'épaississement de la boue ;
- Un dispositif de recyclage qui permet de soutirer les boues en excès au bas du décanteur et d'en renvoyer une partie vers le bassin d'aération. L'autre partie est envoyée vers un épaisseur (**Degrémont, 2005**).

Le traitement tertiaire: il a pour but d'affiner l'épuration selon les qualités exigées pour l'eau rejetée. Les traitements tertiaires les plus courants sont la nitrification-dénitrification et la déphosphatation (**Degrémont, 2005**).

IV.2.2. Traitement des boues

À la sortie des filières de traitement des eaux, les boues dites boues humides contiennent environ 95-99% d'eau. Cette dernière se présente normalement sous deux formes:

- ❖ Eau libre: faiblement absorbée, peut être éliminée par déshydratation mécanique,

- ❖ Eau liée: attachée avec des bactéries ou d'autres particules, peut être éliminée par conditionnement ou par séchage thermique ($>105^{\circ}\text{C}$)(**Baudez, 2001**).

Le traitement des boues consiste donc, tout d'abord, à diminuer leur teneur en eau et à réduire de manière efficace leur charge polluante et fermentescible. Il s'agit de les préparer à une étape ultime de valorisation ou d'élimination. Le traitement des boues comporte globalement : l'épaississement, le conditionnement, la stabilisation brute, la déshydratation puis le séchage. Quelle que soit la technique utilisée, l'eau récupérée doit être recyclée en tête de station.

IV.2.2.1. Epaississement des boues

L'épaississement est la première étape de réduction du volume des boues. C'est un procédé simple, il est basé sur la décantation qui constitue une étape préalable aux traitements suivants. Le taux de siccité obtenu peut atteindre jusqu'à 10% de MS(**Amorce, 2012**).

IV.2.2.2. Conditionnement des boues

Les matières organiques qui constituent la boue (boue secondaire) ont un caractère hydrophile, renferment une forte proportion d'eau après de simples étapes de décantation ou d'épaississement. C'est pourquoi un conditionnement préalable des boues est impératif pour rendre l'opération de déshydratation économiquement réalisable et plus efficace.

Ce conditionnement a pour objet de réduire entre autre la stabilité colloïdale des espèces particulières, de favoriser la libération d'eau ou en réduire l'énergie de liaison avec les espèces particulières pendant l'étape de déshydratation. Il y a donc modification des caractéristiques des boues

Les techniques les plus utilisées sont le conditionnement thermique et le conditionnement chimique(**Kebreab et al, 2004**).

IV.2.2.2.a Conditionnement thermique

Le conditionnement thermique est surtout mis en œuvre dans des grandes stations munies de digesteurs et n'est évoqué qu'à titre indicatif. Il consiste à traiter les boues par cuisson. Lorsque la boue atteint une température suffisante (160 à 210°C), il se produit une transformation irréversible de sa structure qui libère une grande partie de l'eau liée(**Léonard, 2002**).

IV.2.2.2.b Conditionnement chimique

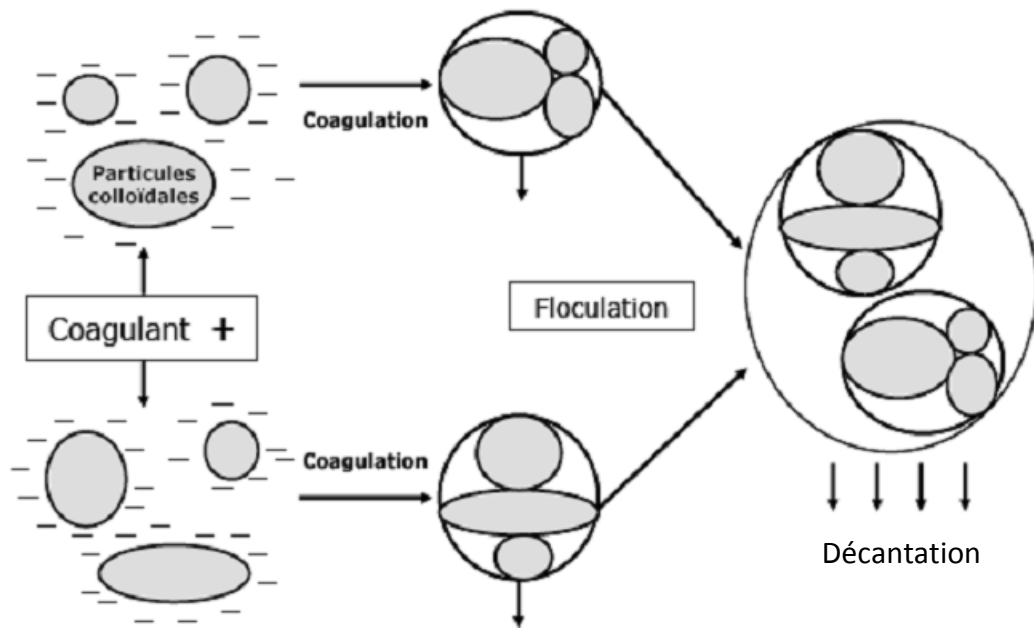
Le conditionnement chimique utilise des réactifs (électrolytes minéraux à polycations), ou organiques (polymères) dont l'ajout de manière contrôlée (dosage et mélange) provoque la

coagulation et/ou la floculation de la suspension (**Chih et al, 2003**). Il en résulte une agglomération des particules sous la forme d'un réseau tridimensionnel : les floes (**Emilian, 2004**). Les polymères utilisés en pratique sont généralement de type cationique car les particules constitutives de la boue sont majoritairement chargées négativement en surface. La structure de ces floes dépend fortement du type de réactif utilisé. Les réactifs minéraux (sels de fer, sels d'aluminium, chaux,...) ont pour inconvénients leur coût et leur devenir dans le cas d'épandage des boues pour des composés qui peuvent présenter une biodégradabilité lente, voire une migration progressive vers les nappes d'eau ou les végétaux. Le principe de prévention de la pollution suggère que les coagulants utilisés, dans le conditionnement des boues, doivent être chimiquement non toxiques et biodégradables pour permettre la réutilisation et la rentabilisation des boues produites. L'utilisation des coagulants naturels tels que le chitosane pourrait améliorer le conditionnement des boues sans toutefois compromettre la santé humaine, ni nuire à l'environnement(**Garcia et al.2010,Wen et al, 2010**).

Mécanisme de coagulation-floculation

La coagulation est l'ensemble des phénomènes physico-chimiques amenant une suspension stable de particules de très petite taille en solution, les colloïdes, à se séparer en deux phases distinctes.

La floculation est l'ensemble des phénomènes physico-chimiques menant à l'agrégation de particules stabilisées pour former des flocons ou « floes » (**figure IV.1**). Ce phénomène est réversible, c'est à dire que l'on peut casser ces agrégats, par exemple en agitant fortement le liquide, pour retrouver la solution initiale de colloïdes (**Bratby, 2007**).



FigureIV.1: Phénomène de coagulation-flocculation

IV.2.2.3. Stabilisation des boues

La stabilisation a pour but d'éviter une reprise de la fermentation des boues qui entraînerait des nuisances olfactives. Dans le même temps, le taux d'agents pathogènes est réduit dans des proportions qui varient selon le type de traitement (**Perron et Hébert, 2007**). On distingue les stabilisations : biologique, chimique et thermique.

IV.2.2.4. Déshydratation des boues

La déshydratation, de type mécanique, constitue la seconde étape de réduction du volume des boues effectuée sur les boues épaissies, conditionnées, stabilisées ou non, afin d'obtenir une siccité des boues plus poussée (en moyenne comprise entre 20 et 30 % selon la nature des boues) (**Amorce, 2012**). Il y a amélioration de la qualité de la boue (pâteuse ou solide).

La déshydratation présente plusieurs avantages : elle facilite le stockage et réduit donc le coût du transport, elle améliore la stabilisation (temps de séjour augmenté) et facilite une utilisation sous forme d'engrais en agriculture.

Il existe plusieurs techniques de déshydratation mécanique : filtration sous vide, filtres presses et centrifugation.

IV.2.2.4.1 La filtration sous vide

Le système de filtration est constitué de cylindres rotatifs dont la partie inférieure est immergée dans la suspension de boue. Le filtrat traverse les toiles qui recouvrent le cylindre et un gâteau se forme à la surface de la toile. Ce gâteau est égoutté au cours de la rotation puis décollé de la toile qui doit être régulièrement nettoyée, nécessitant l'arrêt de la filtration. La filtration sous vide constituait le procédé traditionnel de déshydratation mais elle est en recul actuellement au profit de filtre presse ou de la centrifugation.

Avantages de la filtration sous vide (Leonard. A, 2002).

- Fonctionnement parfaitement maîtrisé
- Souplesse de fonctionnement

Inconvénients de la filtration sous vide (Leonard. A, 2002).

- Encombrement important
- Frais d'exploitation élevée
- Productivité moyenne

IV.2.2.4.2. Les filtres presses

Le filtre-pressé (**Figure IV.2**) est une technique de déshydratation qui consiste à exercer mécaniquement une forte pression sur la boue. Cette dernière libère l'eau interstitielle

au travers d'un filtre. Il se forme alors, avec les solides retenus, un « gâteau » plus ou moins sec. Plusieurs filtre existant : filtres à plateaux, filtres à bande, filtres à membrane et filtres à vis (**Tableau IV.1**).



Figure IV.2 : Exemple de filtre presse

IV.2.2.4.3. La centrifugation

La centrifugeuse est le matériel qui a le plus évolué ces dernières années, ce qui lui a permis de se rapprocher et parfois d'égaliser les performances des filtres presses.

Il s'agit d'une séparation des phases liquide et solide, du fait de leur densité, par accélération centrifuge dans un bol dans lequel tourne une vis. Cette vis racle et évacue la phase solide.

En général, la conception de la vis est adaptée à un type de boue précis. La compacité de cette technologie permet de développer des unités mobiles de déshydratation, ce qui assure une certaine flexibilité du procédé.

Avantages de la centrifugation(Léonard, 2002)

- Technique bien adaptée aux boues difficiles à traiter (boues huileuses)
- Compacité de l'équipement
- Coût d'investissement compétitif par rapport à la filtration
- Permet de travailler en milieu confiné, sans odeur

Inconvénients de la centrifugation(Léonard, 2002)

- Faible consistance de la boue déshydratée
- Nécessité de dessabler pour éviter l'usure de la vis d'extraction
- Frais d'exploitation supérieurs à celui d'un filtre à bandes.

Chapitre IV: Utilisation du chitosane dans le conditionnement des boues urbaines

Tableau IV.1 : Différentes techniques de déshydratation par filtre-presse(Amorce, 2012)

filtres presses à	Principe	Avantages	Inconvénients	Siccité obtenue	Type de station adaptée
Bande	Compression des boues entre deux bandes de toile. Une fois la toile débarrassée de la boue, il faut la laver pour qu'elle conserve sa porosité. Ce système nécessite l'addition de polymères dont la composition et la quantité doivent être constamment adaptées à la qualité des boues.	- lavage régulier - performante pour boues biologiques - grande productivité - fonctionnement en continu	- incapacité de traiter les boues fibreuses - technique quasi abandonnée	25%	petite et moyenne station
plateaux	Composé de chambres de filtration dans lesquelles la boue est comprimée par des vérins hydrauliques jusqu'à formation d'un gâteau compact. L'alimentation en boues est discontinue.	- entretien limité - tout type de boues (préalablement épaissies)	- inadapté pour les boues collantes - investissement élevé - automatisation impossible	>30%	grande station
membrane	Perfectionnement du filtre-presse. Il permet tout d'abord d'éviter l'effet négatif du débit de fuite sur les floccs en fin de montée en pression.	- augmentation de siccité par rapport au filtre à plateaux - 40% de productivité de plus qu'un filtre à plateaux		>34%	peu répandu
Vis	Après la phase d'essorage - compactage, grâce à une vis d'extrusion autour de laquelle se trouve une grille filtrante. Les grilles sont autonettoyantes et spécifiques à chaque type de boue.	- bien adapté aux boues fibreuses - fonctionnement en continu - peu d'entretien	- siccité limitée	20%	peu répandu

IV.2.2.5. Séchage des boues

Le séchage est une opération unitaire du traitement des boues consistant à évaporer de l'eau libre et liée. Plusieurs techniques de séchage sont envisageables :

- Lits de séchage (séchage solaire)
 - Lit de sable
 - Lagune de séchage
 - Lit planté de macrophytes
- Séchage thermique ($> 105^{\circ}\text{C}$) (Amorce, 2012).

Chapitre V
Matériel et Méthodes

Ce chapitre rassemble le matériel utilisé et les méthodes appliquées au laboratoire, d'une part, dans la préparation des chitosanes à partir des crevettes blanches *Parapenaeus longirostris* et d'autre part, leur application dans le conditionnement/déshydratation des boues urbaines.

V.1. Matériel

V.1.1. Solutions et réactifs

- Calcite CaCO_3 (Riedel de Haenag seeze Hannover)
- hydroxyle de sodium NaOH (99-100%) Riedel-de Haenag
- acide chlorhydrique HCl (35-37%) BIOCHEM, chemopharma
- acide acétique 99-100% de pureté, d=1,5 de marque Analar normapur

V.1.2. Matériel biologique

Les crevettes : ce sont des crevettes blanches pêchées sur le littoral algérien dans la région d'Azzefoun de la wilaya de Tizi-Ouzou. La récolte a été faite durant l'année 2014 et à 02 saisons : hiver (le mois de janvier) et printemps (le mois de juin). Ces crevettes appartiennent au genre *Parapenaeus* et à l'espèce *longirostris*, elles sont présentes en abondance et à différentes profondeurs de 150 à 900 m le long du littoral algérien (**Nouar et Maurin, 2001**).

Le chitosane commercial (Sigma Aldrich).

La chitine commerciale (Sigma Aldrich)

Les boues urbaines sont des boues épaissies provenant de la STEP Est de la ville de Tizi-Ouzou.

V.1.3. Appareillages

- Turbidimètre HANNA instrument; LP2000.
- pH- mètre HANNA
- Conductimètre WTW (Con 1970i).
- Spectromètre à transformée de Fourier de type JASCOFTIR-4200 Type A
- Chronomètre
- Etuve MEMMERT.
- Moteur d'agitation mécanique Heidolph.
- Balance analytique scout pro 600g.
- Four à moufle (30-3000°C) Linn High Therm.

- Microscope électronique à balayage ESEM XL 30.
- Agitateur à plaque chauffante, de STUART SB 162.
- Thermomètre.
- Mortier
- Viscosimètre de type Ubbelohde, (Technico ASTM D 445) de constante $k=0,01\text{cS/s}$.

V.2. Méthodes expérimentales et analytiques

V.2.1. Préparation du chitosane à partir des carapaces de crevettes *Parapenaeus longirostris*

Chez les crustacés, la chitine est intimement associée au calcaire de la coquille ou de la carapace des crevettes, elle est liée par des liaisons covalentes aux protéines, aux caroténoïdes, aux lipides et aux pigments.

Dans la valorisation des déchets de crevettes récupérées dans la région d'Azzefoun, objet de cette étude, une nouvelle démarche différente de celle conventionnelle a été proposée. Elle consiste à produire directement du chitosane à partir des carapaces sans l'isolation de la chitine.

V.2.1.1. Obtention de la carapace brute

Les crevettes blanches sont, tout d'abord, décortiquées manuellement. Avant leur expérimentation, les carapaces subissent un prétraitement physique qui consiste en un lavage énergétique afin d'éliminer les résidus organiques (tissus) et bouillis pendant une heure, après quoi ils sont lavés une seconde fois et enfin séchés à l'étuve à 163°C pendant une heure.

Après séchage, les carapaces sont débarrassées une dernière fois d'éventuels tissus encore présents et subissent le quenching (Mukherjee, 2001). Ce traitement permet de casser la structure cristalline de la chitine contenue dans la carapace, facilitant ainsi son extraction ainsi que sa transformation. Il consiste à placer les carapaces, préparées comme indiqué ci-dessus, dans l'étuve à 80°C pendant 48 heures. Elles sont, ensuite, rapidement plongées dans un bain froid d'acétone, contenant de la glace. Cette étape de traitement rend par ailleurs les carapaces plus faciles à broyer. Dans cette étude, un mortier a été utilisé. La carapace prétraitée physiquement est représentée par le symbole **CB**.

V.2.1.2. Obtention de chitosane

Afin d'optimiser les conditions d'obtention de chitosanes ayant des propriétés d'un bon floculant et le moins coûteux, nous avons opté à suivre la cinétique de désacétylation pendant 35

jours de la biomasse marine avec et sans déminéralisation, au préalable. Pour cela, 02 protocoles A et B ont été suivis :

Protocole A

La carapace brute **CB** subit **02 étapes successives** de traitement :

La déminéralisation (1^{ère} étape) : elle est réalisée dans les conditions optimisées dans les travaux de thèse de (**Benhabils , 2013**), à savoir rapport solide/solvant égale à 1/15 (g/ml) avec 1,5N HCl au bout de 1 heure et à température ambiante. L'échantillon final est nommé **CBDM**. Avec seulement cette étape, 05 essais ont été répétés afin d'évaluer la perte de masse occasionnée par le traitement acide au matériau biologique.

La désacétylation basique (2^{ème} étape) de la carapace déminéralisée.

Le schéma du protocole A est décrit sur la figure V.1. L'échantillon final est nommé **CBDMDA**.

Protocole B

La carapace subit **01 seule étape** de traitement. Elle consiste à la désacétylation basique de la carapace brute **CB**. Le schéma du protocole B est décrit sur la figure V.1. L'échantillon final est nommé **CBDA**.

Dans les 02 protocoles, la cinétique de désacétylation de la carapace (déminéralisée ou non déminéralisée) a été suivie dans un milieu fortement alcalin et aux conditions respectueuses de l'environnement et qui sont les suivantes :

- 02 températures ont été choisies : température ambiante ($20 \pm 3^{\circ}\text{C}$) et température fixe 30°C .
- Concentration modérée en base : 40% de NaOH au lieu de 45% habituellement utilisé.

Pour ceci, des quantités identiques de **CB** ou de **CBDM** (1g) ont été mises en suspension dans 50ml de NaOH à 40% contenues dans des flacons de 100ml pendant 25 jours (à température de DA 30°C) et 35 jours (à température ambiante de DA) sous une agitation périodique (02 fois par jour).

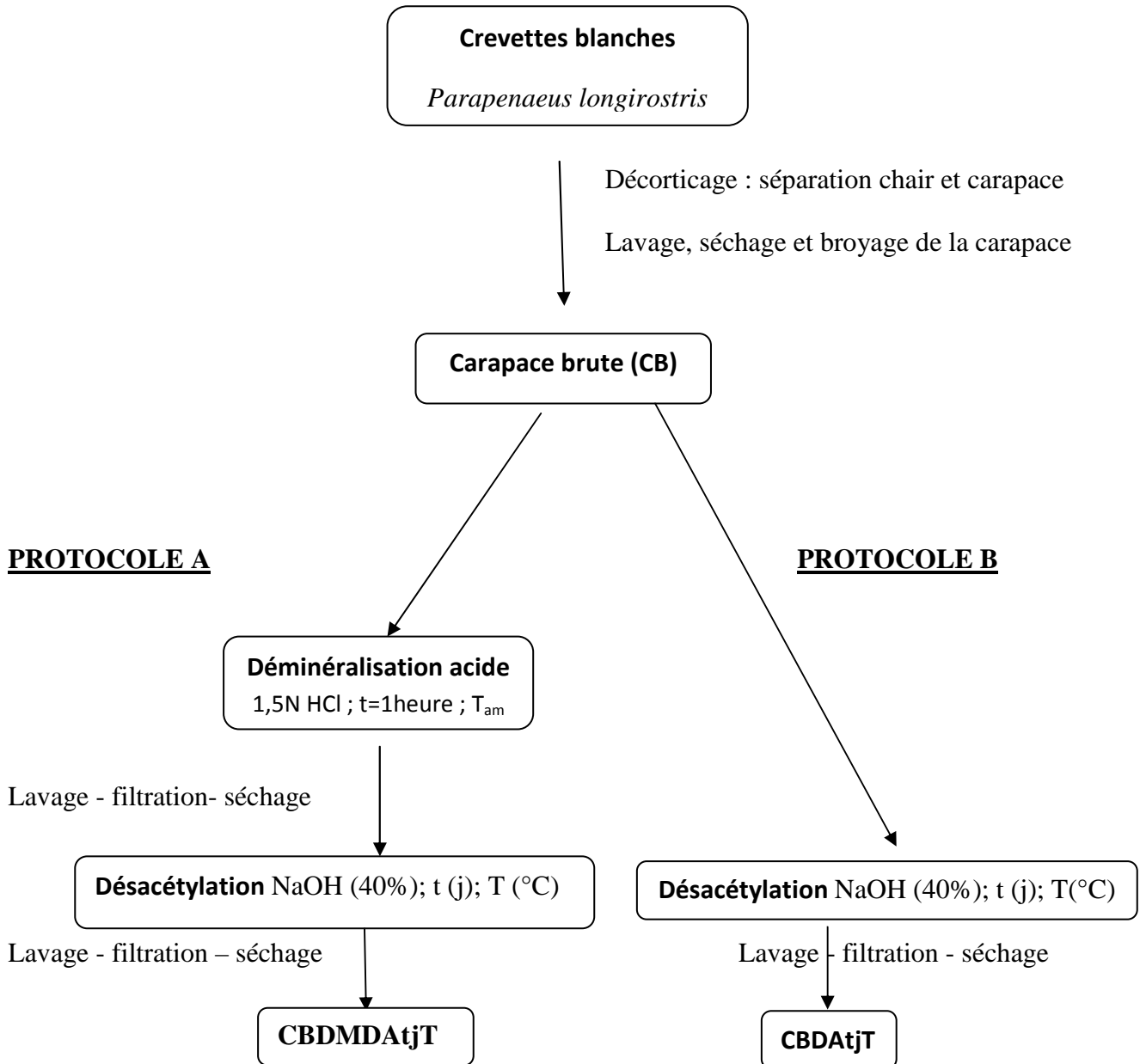


Figure V.1. : Description des protocoles A et B de préparation des chitosanes à partir des crevettes blanches *Parapenaeus longirostris*

Les échantillons produits à différents temps et aux 02 températures (7; 11; 16; 22 et 25 jours lorsque la désacétylation est réalisée à 30°C et 7; 10; 22 et 35 jours lorsque la désacétylation est réalisée à T_{am}) sont symbolisés par **CBDMDAtjT** (protocole A) et **CBDA_{tjT}** (protocole B) avec *t(j)* désigne la durée de la désacétylation et *T(°C)* désigne la température de la désacétylation.

En fin de chaque traitement (déméralisation, désacétylation), le filtrat est éliminé par filtration sur un tamis (passoir), le culot retenu est rincé abondamment avec de l'eau distillée jusqu'à la neutralité, et ce, en contrôlant le pH des eaux de rinçage. Il est, ensuite, séché à l'étuve à 60°C.

A la température de désacétylation de 30°C, les eaux de lavage produites par les 02 protocoles ont été récupérées pour une quantification.

V.2.1.3. Analyses physico-chimiques de la carapace brute et de la carapace déminéralisée

Elles consistent à déterminer le pH, l'humidité et le taux de cendres des carapaces brute et déminéralisée.

- **Détermination du pH à 10% (masse/volume)**

Ce paramètre nous permet d'avoir une idée sur le caractère alcalin ou acide de la carapace. Pour estimer son pH, 10g de carapace sont mis à macérer dans 100ml d'eau distillée pendant 1 heure. La valeur du pH est déterminée par une lecture directe à l'aide d'un pH mètre.

- **Mesure de l'humidité**

La teneur en eau de la carapace est déterminée, selon RAO et ses collaborateurs (2000), après un étuvage à 105°C pendant 24 heures. La perte de masse est équivalente à la quantité d'eau présente dans la carapace. L'humidité H se calculera par :

$$H = (M_0 - M_1 / M_0) \times 100 \quad (V.1)$$

H : humidité (%)

M₀ : masse de la prise d'essai (g)

M₁ : masse de la prise d'essai après étuvage (g)

- **Détermination du taux de cendres**

Le taux de cendres correspond au pourcentage de la matière minérale présente dans la carapace. Le principe repose sur l'incinération de 1g de carapace à 900°C pendant 2,5 heures (Mirzadeh et al., 2002) dans un four à moufle. Le taux de minéralisation (TM) se calculera par :

$$TM = (M_2 - M_0 / M_1 - M_0) \times 100 \quad (V.2)$$

M_0 : masse du creuset vide (g).

M_1 : masse du creuset avec la prise d'essai (g)

M_2 : masse du creuset avec les cendres (g)

V.2.1.4. Caractérisation des chitosanes préparés

- **Test de solubilité dans l'acide dilué**

L'une des caractéristiques du chitosane par rapport à la chitine est sa solubilisation en milieu acide dilué, l'acide le plus fréquemment utilisé est l'acide acétique (Gregorio et al, 2009). En général, le chitosane est parfaitement soluble à pH 3-4 mais également soluble dans des solutions diluées (0,1-1%) d'acide nitrique et d'acide chlorhydrique. En effet, les groupements aminés (NH_2) du chitosane sont protonés à partir du pH 3-4 et le polymère chargé positivement (NH_3^+) devient soluble. Grâce à cette propriété, il est possible de confirmer que les produits préparés sont des chitosanes (Austin, 1984).

Dans cette étude, 50 mg de chaque échantillon ont été solubilisés dans 50 ml d'acide acétique à 1%.

- **Caractérisation par spectroscopie FTIR**

Les spectres IR ont été enregistrés dans une fenêtre spectrale comprise entre 400 et 4000 cm^{-1} grâce à un spectromètre à transformé de Fourier de type JASCOFTIR-4200 Type A. chaque échantillon a été étalé sur une surface en diamant. La spectroscopie IR à transformée de Fourier est utilisée pour caractériser les groupements fonctionnels présents à la surface des échantillons (CB, CBDM, CBDMDAtjT et CBDAAtjT).

- **Caractérisation par micrographie MEB**

La microscopie électronique à balayage est basée sur l'interaction entre un faisceau d'électron pour obtenir une image de l'échantillon irradié avec une résolution de 0,01 μm . Cette technique donne des informations sur relief de l'échantillon, la morphologie de graines et leur agencement .

Les échantillons séchés et broyés (**CB**, **CBDM**, **CBDMDAtjT** et **CBDA_{tjT}**) sont observés grâce à un microscope électronique à balayage PHILIPS ESEM XL 30 sous une tension allant de 10 à 25 KV et à différents grossissements de 1 à 100µm.

- **Détermination du degré de désacétylation**

Pour quelques échantillons préparés (**CBDMDAtjT** et **CBDA_{tjT}**), le degré de DA a été déterminé par 03 méthodes.

-Par spectroscopie FTIR :

La méthode la plus simple et la plus rapide pour calculer le degré DDA est celle de la spectroscopie IR proposée par Khan et *coll.* (2000). Le degré DDA des échantillons a été déterminé en utilisant la formule de (**Bugneroto et coll, 2001**) qui s'écrit :

$$DDA = 100 - \left[\frac{(A_{1320}/A_{1420}) - 0,3822}{0,03233} \right] \quad (V.3)$$

A_{1320} : absorbance à 1320 cm^{-1} correspondant à l'amide III.

A_{1420} : absorbance à 1420 cm^{-1} correspondant à la déformation symétrique de CH_3 et CH_2 .

(**Bugneroto et coll, 2001**) ont signalé que DDA déterminé à partir du ratio A_{1320}/A_{1420} se rapproche du DDA déterminé à partir de la RMN (^1H) et les spectres RMN (^{13}C) pour toute la gamme des DDA. L'explication donnée est que les intensités et les positions des bandes apparues à 1320 cm^{-1} et 1420 cm^{-1} n'ont pas changé avec l'humidité et les liaisons hydrogène.

-Par dosage conductimétrique

Le dosage conductimétrique est une méthode fidèle et juste pour déterminer DDA excepté pour quelques échantillons qui ont un degré de cristallisation élevé (**Yu et al,1999**). C'est aussi une méthode simple et peu coûteuse comparée aux autres méthodes d'analyse élémentaire et chromatographique. Elle comporte les étapes suivantes :

- ✓ Solubilisation de 150 mg de différents échantillons dans 10 ml de HCl à 0,1N ;
- ✓ Ajustement du volume de la solution à 200 ml avec de l'eau distillée;
- ✓ Titration de la solution de chitosane sous agitation (250rpm), avec une solution NaOH à 0,1N ;

- ✓ Mesure de la conductivité de chaque solution de chitosane après chaque ajout de 0,5 ml de NaOH.

Le calcul de DDA se fait selon la formule suivante :

$$DDA = \frac{203 \times (V_2 - V_1) \times N}{m + (V_2 - V_1) \times N} \times 100 \quad (V.4)$$

Avec :

N : normalité de la solution de NaOH;

V₂ et V₁ : volumes équivalents de NaOH (à déterminer graphiquement)

m : masse de chitosane (g) ;

203 (g/mol) : masse moléculaire du monomère acétylé.

42 (g/mol) : différence entre la masse moléculaire du monomère acétylé et la masse moléculaire du monomère désacétylé.

-Par dosage pH-métrique

La détermination du DDA par dosage pH-métrique s'effectue selon la méthode de Tolmimate et *coll.*, 1999. Le dosage pH-métrique se déroule selon les étapes suivantes :

- ✓ Solubilisation de 135 mg de différents échantillons dans 10 ml de HCl à 0,1 N ;
- ✓ Ajustement du volume de la solution à 200 ml avec de l'eau distillée;
- ✓ Titration de la solution, sous agitation à 250 tpm, avec une solution de NaOH à 0,05 N ;
- ✓ Mesure du pH de la solution après chaque ajout de 0,5ml de NaOH.

Comme dans le cas du dosage conductimétrique basique, cette courbe présente deux points d'inflexions. Ces points sont facilement identifiables graphiquement qui correspondent à la variation de la deuxième dérivée. Dans ce dernier cas, la courbe rencontre l'axe des volumes V(NaOH) en deux points. La différence de volume de NaOH entre ces deux points correspond à la quantité d'acide chlorhydrique nécessaire pour protoner les groupements aminés du chitosane.

L'expression du DDA est la même que celle utilisée dans le cas du dosage conductimétrique basique.

- **Détermination de l'indice de cristallinité I_{cr} par FTIR**

La cristallinité de la chitine et du chitosane est un paramètre important. Elle contrôle un certain nombre de propriétés comme l'accessibilité aux sites internes dans la chaîne macromoléculaire, les propriétés de gonflement dans l'eau et les propriétés diffusionnelles

(Kurita, 2006; Rinaudo, 2006) Les chaînes de polymères peuvent être agencées de différentes manières suivant l'origine du matériau (Muzzareli, 1977).

Pour quelques échantillons préparés (CBDMDAtjT et CBDAAtjT), l'indice de cristallinité est calculé par :

$$I_{cr} = \frac{A_{1379}}{A_{2900}} \quad (V.5)$$

• Détermination du poids moléculaire par viscosimétrie

Le poids moléculaire des échantillons préparés est calculé à partir de sa viscosité intrinsèque notée $[\eta]$ en appliquant la relation de (Mark-Houwink Sakurada, Rinaudo et al. 1993).

$$[\eta] = K \times PM_v^a \quad (V.6)$$

$[\eta]$: viscosité intrinsèque ($dl.g^{-1}$).

PM_v : poids moléculaire moyen viscosimétrique du polymère (KDa).

K et a : paramètres qui dépendent du système polymère-solvant à une température donnée.

Dans notre étude, on a utilisé le solvant acide acétique; $T=30^\circ C$; $a=0,72$; $K=4,74 \times 10^{-5} g.dl^{-1}$ (Kasaai, 2007).

On détermine $[\eta]$ en calculant :

En premier, la viscosité relative par la mesure du temps d'écoulement de la solution d'échantillon et celle du solvant. Ainsi, elle s'écrit :

$$\eta_{rel} = \frac{t}{t_0} \quad (V.7)$$

t : temps d'écoulement de la solution de chitosane de concentration C_i

t_0 : temps d'écoulement du solvant.

La mesure du temps a été effectuée en suivant les étapes expérimentales suivantes :

- ✓ Dissoudre 1g d'échantillon dans 100 ml d'une solution d'acide acétique à 1% (solution mère).
- ✓ A partir de la solution mère, préparer 05 solutions diluées de chitosanes dans de l'acide acétique (1%) à des teneur suivantes ($g.dl^{-1}$) : $C_1=0,1$; $C_2=0,08$; $C_3=0,06$, $C_4=0,04$, $C_5=0,02$.
- ✓ Verser le contenu de chaque solution dans le viscosimètre ;

✓ Mesurer le temps d'écoulement du solvant (CH_3COOH) et de chacune des solutions.

En second, la division du logarithme de cette valeur par la concentration de la solution de chitosane (g.dl^{-1}), on obtient ce que nous appelons la viscosité inhérente :

$$\eta_{\text{inh}} = \frac{\ln \eta_{\text{rel}}}{C_i} \quad (\text{V}.8)$$

Ainsi, pour différentes concentrations de chitosanes, on obtient donc différentes valeurs de viscosités inhérentes. Le tracé des viscosités inhérentes en fonction des concentrations donne lieu à une droite dont l'ordonnée à l'origine est égale à la viscosité intrinsèque.

Le poids moléculaire viscosimétrique a été déterminé pour quelques échantillons préparés (**CBDMDAtjT** et **CBDAtjT**).

V.2.2. Application des chitosanes dans le conditionnement des boues urbaines

V.2.2.1. Origine des boues utilisées

La station d'épuration des eaux usées (STEP) de la région Est de Tizi-Ouzou est située dans une zone peu industrialisée. Les eaux sont majoritairement domestiques, à cet effet, les boues issues de cette station sont des boues urbaines. La STEP comprend principalement (figure V.2) :

- Prétraitements physiques,
- Dégrillage grossier
- Dégrillage fin
- Dessablage/déshuilage
- Aération biologique
- Traitement des boues : Epaissement des boues, Stabilisation aérobie et Déshydratation sur lits de séchage.

La station STEP Est de la ville de Tizi-Ouzou n'utilise pas le conditionnement des boues, en effet les boues activées épaissies sont directement envoyées sur les lits de séchage.

Les lits de séchage sont des lits de sable où les boues épaissies sont filtrées puis séchées naturellement. La durée de séchage dépend des conditions climatiques et des saisons. Les eaux filtrées sont envoyées en tête de la station.

L'échantillonnage a été fait à la sortie de l'épaississeur (photo V.1). La boue épaissie est transportée dans des jerricans et stockée à 4°C pour un maximum de 3 jours, afin de réduire l'effet du changement de la composition biochimique. Avant les essais, un échantillon de 2000 ml de boue a été laissé à la température ambiante du laboratoire pour une acclimatation.



Photo V.1 : Prélèvement de boues à la sortie de l'épaisseur de la STEP est de la ville de Tizi-Ouzou

Arrivée des eaux usées

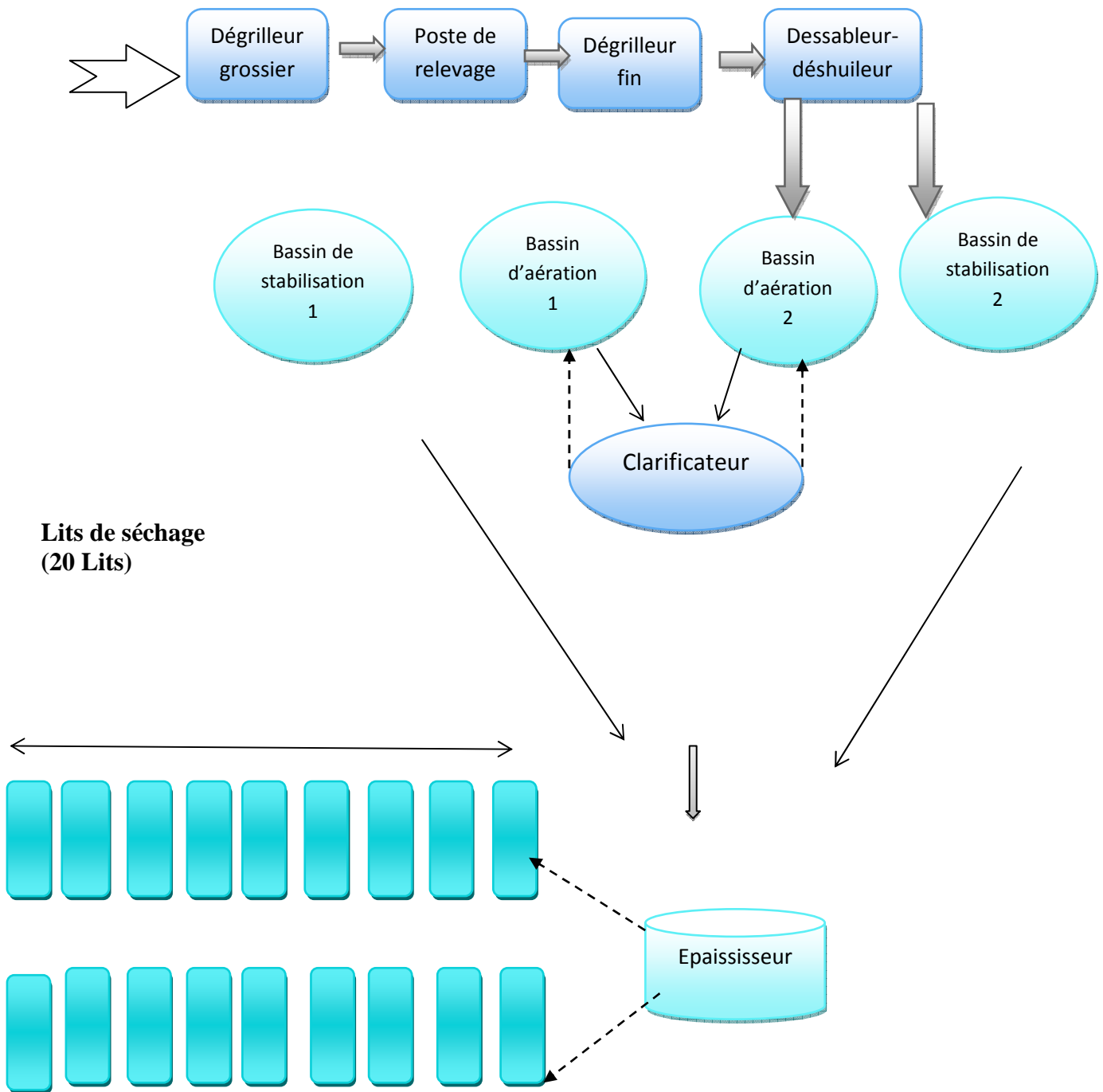


Figure V.2:Schéma général de la station d'épuration des eaux usées

(STEP Est de Tizi-Ouzou, 2014)

V.2.2.2. Analyses physico-chimiques des boues et des filtrats.

- **Matière sèche (MS) de la boue**

Cette mesure s'effectue par la mise en place de l'échantillon de boues épaissies dans une étuve à 105°C durant 24 h. La masse finale de l'échantillon (MS) est ainsi, calculée (Lacée, 1985).

- **Siccité (Sc) de la boue**

La siccité est le pourcentage de matière sèche. En effet, un échantillon de boues avec une siccité de 10% correspond à 90% d'eau, d'où l'équation de la siccité suivante (Lacée, 1985) :

$$Sc (\%) = \left(1 - \frac{MH-MS}{MH}\right) * 100 \quad (V.9)$$

Avec :

MH : masse d'échantillon humide (g);

MS : masse d'échantillon sèche (g).

- **Teneur en matière volatile sèche (MVS) de la boue**

La matière sèche est portée pendant 2 heures dans un four à moufle à 550°C. Connaissant la masse initiale et la masse finale, la teneur en matière volatile rapportée à la matière sèche est calculée.

$$MVS = \frac{M_{si} - M_{sf}}{M_{si}} \times 100 \quad (V.10)$$

Avec :

M_{si} : masse initiale d'échantillon de boues séchées à 105°C (g) ;

M_{sf} : masse finale d'échantillon de boues calcinées à 550°C (g)

Pour la majorité des boues, la détermination de la matière volatile est une évaluation approchée de la matière organique (Lassée, 1985).

- **Turbidité du filtrat**

La turbidité correspond à la réduction de la transparence d'un liquide due à la présence de particules en suspension ou des matières colloïdales. Elle se mesure en faisant passer un faisceau lumineux à travers l'échantillon à tester (Rejsek, 2002).

Les mesures ont été réalisées sur le filtrat grâce à un spectrophotomètre HANNA LP2000.

- **Matière en suspension (MES) du filtrat**

Les matières en suspension désignent l'ensemble des matières insolubles dans l'eau. Les mesures ont été réalisées sur les filtrats grâce à un spectrophotomètre HANNA LP2000.

- **pH du filtrat**

Le pH est en relation avec la concentration des ions hydrogène $[H^+]$ présent dans l'eau ou les solutions. Il mesure la différence de potentiel existant entre une électrode de verre et une électrode de référence (Calomel KCl saturé). (Rodier et al., 2009).

V.2.2.3. Conditionnement et déshydratation biologique des boues.

- **Préparation du flocculant naturel en solution**

Quelques chitosanes préparés dans cette étude ont été testés dans le conditionnement des boues urbaines épaissies. Le chitosane a été dispersé dans une solution d'acide acétique dilué (1%) ensuite utilisé comme agent coagulant-flocculant en vue d'améliorer la déshydratation de la boue.

- **Stratégie de conditionnement-déshydratation**

Le conditionnement de la boue a été assuré par la floculation utilisant un moteur d'agitation mécanique (photo V.2). La floculation de la boue s'effectue dans des béchers de 600 ml ayant 300 ml de boues mélangés à des doses croissantes de 0,5 à 5mg de chitosane dispersé/g de MS) (Zemmouri, 2012). Le mélange subit une agitation à 250tr/min pendant 20 secondes (coagulation). La vitesse d'agitation est ensuite réduite à 50tr/min pendant 2 minutes (floculation) (Zemmouri, 2012).

Les boues conditionnées subissent, par la suite, l'étape de déshydratation assurée par une filtration classique (photo V.3).



Photo V.2 : Essai de coagulation-floculation



Photo V.3 : Déshydratation des boues conditionnées

Chapitre VI

Résultats et discussion

Cette partie du chapitre est consacrée à la présentation des résultats expérimentaux obtenus dans cette étude, ainsi qu'aux interprétations et discussion portant sur ces résultats.

VI.1. Efficacité des protocoles d'isolation du chitosane

VI.1.1. Perte de masse durant la déminéralisation

Le traitement de la carapace brute (**CB**) par l'acide chlorhydrique 1,5N (protocole A) suivi de lavage répété et de la filtration a conduit à la diminution en moyenne de 50,80% de sa masse initiale. Cette perte en masse, calculée sur l'ensemble des 05 essais effectués et rassemblés dans le tableau VI.1, est expliquée d'une part par la solubilisation des minéraux incrustés dans le matériau biologique et d'autre part par le lavage et la filtration nécessaires pour entamer l'opération ultérieure et qui est la désacétylation. En effet, la déminéralisation de **CB** provoque une acidification du milieu. Un pH de 0,53 (mesurée à 20°C) a été atteint à la fin du traitement.

Tableau VI.1 : Calcul de la perte de masse après déminéralisation-lavage-filtration de la carapace brute

m_{CB} / V_{HCl} (1g/15ml)	N° essai				
	1	2	3	4	5
m_{CB} (g)	1,0027	1,0059	1,0039	1,0049	1,0058
m_{CBDM} (g)	0,40	0,638	0,465	0,493	0,487
$\frac{\Delta m}{m}$ (%) (CBDM)	60,27	36,79	53,89	51,18	51,88

VI.1.2. Estimation de la quantité d'eaux de lavage des carapaces traitées

Pour chaque échantillon obtenu à la fin des deux protocoles A et B relatifs à la préparation du chitosane avec une température de désacétylation choisie de 30°C, les eaux de lavage ont été totalement récupérées afin qu'une quantification en volume soit effectuée. Pour cela, de l'eau distillée (pH 6,14 mesuré à 20°C) a été utilisée. Les valeurs obtenues sont rassemblées dans le tableau VI.2 pour le protocole A et dans le tableau VI.3 pour le protocole B.

Dans le protocole A et pour 1 gramme de carapace **CB**, les étapes de déminéralisation et de désacétylation ont nécessité 10 litres d'eau pour l'élimination de l'acide en excès et 3,5 à 7,5 litres d'eau variables selon la durée de désacétylation pour l'élimination de la soude en

Chapitre VI : Résultats et discussion

excès, respectivement. Par conséquent, les échantillons préparés par le protocole A nécessitent une quantité totale d'eau variable entre 13 et 18 litres.

Tableau VI.2 : Quantification des eaux de lavage dans le protocole A d'isolation du chitosane

m_{CBDM} / V_{NaOH} (1g/50ml)	durée de DA à 30°C (jours)				
	7	11	16	22	25
V_{H_2O} (l)	7,5	5	4,5	3,5	4

Quant au protocole B et pour 1 gramme de carapace **CB**, l'étape de désacétylation a nécessité une quantité d'eau variable entre 9 et 16 litres selon la durée de désacétylation.

Tableau VI.3 : Quantification des eaux de lavage dans le protocole B d'isolation du chitosane

m_{CB} / V_{NaOH} (1g/50ml)	durée de DA à 30°C ((jours)				
	7	11	16	22	25
V_{H_2O} (l)	12,5	9	15,5	12	16

En comparant les deux protocoles, la diminution de la quantité d'eau de lavage est expliquée par la réduction du nombre de traitements chimiques que la carapace **CB** subie lors de la préparation du chitosane.

Le traitement chimique d'isolation du chitosane génère donc des effluents acides et basiques en quantité non négligeables. La bibliographie cite très rarement les quantités produites mais signale très souvent la nécessité de leur traitement en vue de la protection de l'environnement contre la pollution par les réactifs chimiques (les acides et les bases). (**Crini et al., 2009**)

VI.1.3. Caractérisation physico-chimique des carapaces

La caractérisation physico-chimique de la carapace brute et de la carapace déminéralisée a été effectuée par la détermination du taux de cendre, du taux d'humidité et du pH. Les résultats sont regroupés dans le tableau VI.4.

La carapace de crevette **CB** présente un taux important de cendre de 29,5%, un faible taux d'humidité de 3,61% ce qui indique une faible hydratation et un pH basique (8,43)

Chapitre VI : Résultats et discussion

traduisant la présence des carbonates dans la structure native de la chitine. Ces résultats sont comparables à ceux trouvés par (Benhabiles ,2013) et (Arbia ,2014) pour la même espèce *Parapenaeus longirostris*. D'après ces auteurs, les taux de protéines sont : 40% et 29% et les taux de chitine sont : 23% et 27%, respectivement.

Le traitement acide appliqué à cette carapace provoque une réduction importante de la teneur en minéraux, elle passe de 29,5 à 3,4% traduisant par conséquent l'efficacité des conditions opératoires établies par (Benhabiles ,2013) dans l'élimination du carbonate de calcium. Après lavage et séchage, le pH est proche de la neutralité (7,36) et le taux d'humidité reste toujours faible (3,04).

Tableau VI.4 :Caractérisation physico-chimique des carapaces

Paramètres	Carapace brute	Carapace brute déminéralisée
	CB	CBDM^a
Cendres (%)	29,5	3,4
Humidité (%)	3,61	3,04
pH à 20°C	8,43	7,36

^a : **CBDM** utilisée pour les essais de désacétylation à 30°C

VI.1.4. Test de solubilité

Les échantillons obtenus par les deux protocoles A et B ont été mis dans une solution d'acide acétique afin de tester leur solubilité en milieu acide dilué. Cette propriété est primordiale pour l'application ultérieure. Les résultats obtenus pour les carapaces **CBDMDA** et **CBDA** sont rassemblés dans les tableaux VI.5 et VI.6, respectivement.

La carapace brute, initialement insoluble dans l'acide acétique, devient soluble après une déminéralisation puis une désacétylation à 30°C pour toutes les durées étudiées (7 à 25 jours).

Par contre sans l'étape de déminéralisation, cette carapace devient complètement soluble dans l'acide acétique qu'à partir de 16 jours de désacétylation à 30°C. L'insolubilité peut être expliquée par la présence d'impuretés dans les échantillons produits.

Tableau VI.5 : Test de solubilité des carapaces brutes déminéralisées et désacétylées à différents temps et à T=30°C

	Durée de DA à 30°C t(jours)					
	CBDMDA					
	0	7	11	16	22	25
Solubilité dans AA	Insoluble	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble

AA : acide acétique à 1%

Tableau VI.6 : Test de solubilité des carapaces brutes désacétylées à différents temps et à T=30°C

	Durée de DA à 30°C t (jours)					
	CBDA					
	0	7	11	16	22	25
Solubilité dans AA	Insoluble	Partiellement soluble	Partiellement soluble	soluble	Soluble	Soluble

AA : acide acétique à 1%

VI.1.5. Caractérisation, par FTIR et MEB, de la structure de la carapace (brute, déminéralisée et désacétylée à 30°C)

La spectroscopie FTIR nous renseigne sur les différents groupements chimiques présents dans la structure du polysaccharide, pour ce qui concerne la micrographie MEB, elle nous renseigne sur l'état et la morphologie de la surface du produit solide. La chitine commerciale et le chitosane commercial ont été aussi analysés par ces techniques afin de comparer nos échantillons préparés selon les 02 protocoles A et B à ces polymères pris comme polymères standard. Il a été étudié en premier la température de DA de 30°C. Les crevettes pêchées en saison d'hiver 2014 ont fait l'objet de cette investigation.

VI.1.5.1. Carapace brute(CB)

L'analyse par FTIR de la carapace prétraitée **CB** présente plusieurs pics comme le montre la figure VI.1a :

- pics à 3288 cm⁻¹, à 2928 cm⁻¹ et à 555,91cm⁻¹ correspondant à l'α-chitine (figure VI.2 ; tableau VI.7).

Chapitre VI : Résultats et discussion

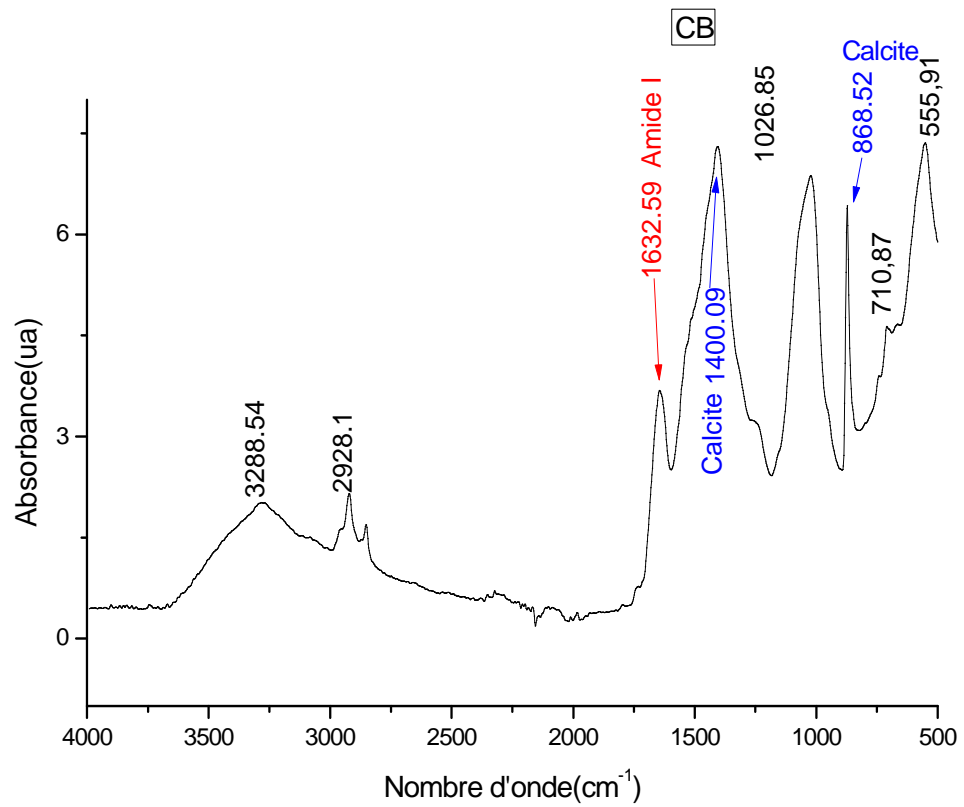
- pic à $1632,59\text{ cm}^{-1}$ caractéristique de l'amide I de l' α -chitine (figure VI.2; tableau VI.7).
- pics à 1400 cm^{-1} , à 868 cm^{-1} et à $710,87\text{ cm}^{-1}$ correspondant à la calcite. Ces pics sont semblables à ceux trouvés lors de l'analyse FTIR du carbonate de calcium (figure VI.3).
- pic à 3288 cm^{-1} qui correspond au groupement O–H.

L'analyse par MEB de la carapace prétraitée **CB** montre la présence, comme le montre la figure VI.1b, de dépôts de la calcite de dimensions variables ainsi que de pores qui paraissent pleines.

Tableau VI.7 : Les principales bandes caractéristiques de l' α -chitine

Bandes (cm^{-1})	Nature de vibration ou de rotation
545,42 et 963,06	Région sensible à la structure
1014,06	Vibration d'élongation C-O-C du cycle glucosidique
1077,65	Vibration d'élongation du -O-H
1254	Vibration de distorsion de -O-H
1404,71	Déformation symétrique de -CH ₃
1560,67	Amide II (ν_{N-H})
1610,64	Amide I ($\nu_{C=O}$)
1305,53	Amide III (δ_{C-N})
523,741 et 1660	Pics se trouvant dans la chitine seulement
2909,79	Elongation de -CH et -CH ₂
3086,95	Liaison d'hydrogène intermoléculaire
3242,91 et 3434,45	Elongation de -NH et -OH, incluant les liaisons d'hydrogène.

a)



b)

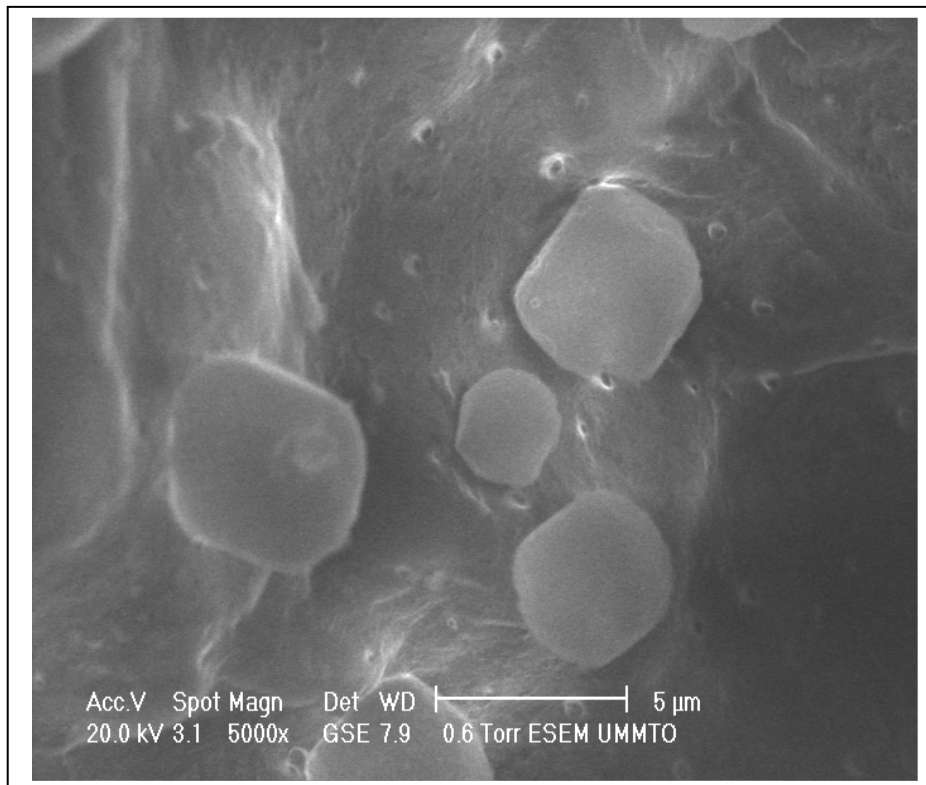


Figure VI.1 : Spectre FTIR (a) et micrographie (b) de la carapace brute (CB)

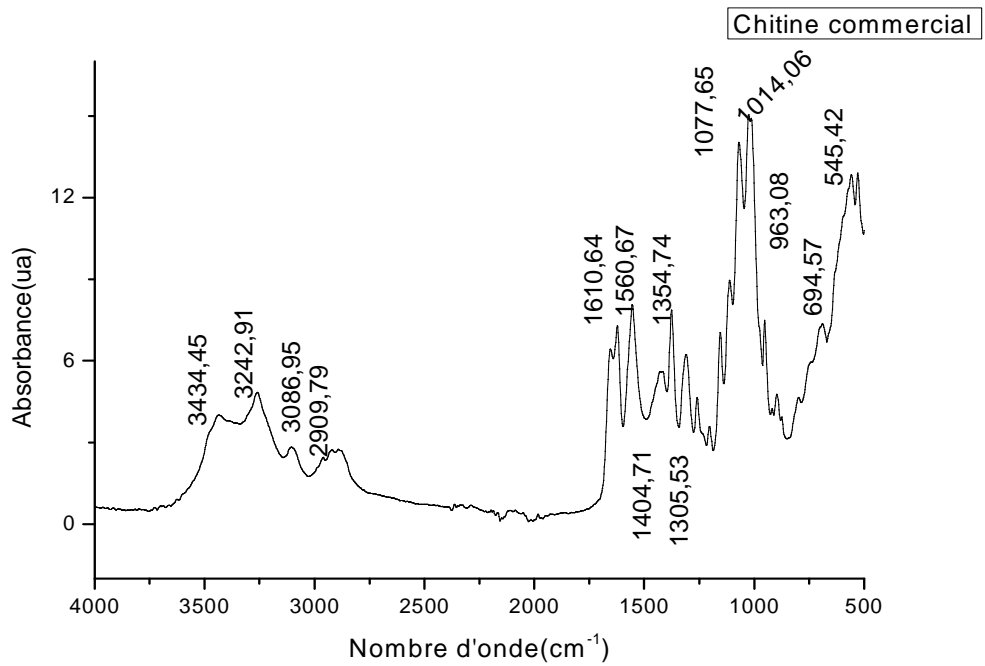


Figure VI.2: Spectre FTIR de la chitine commerciale (Sigma Aldrich)

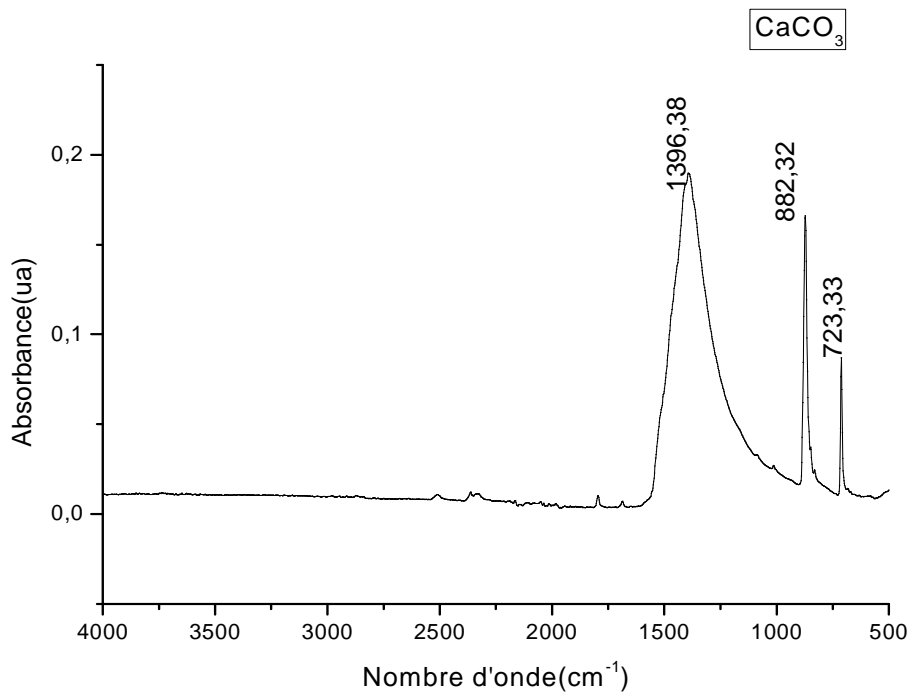


Figure VI.3: Spectre FTIR de la calcite (Riedel de HaenagSeezeHannover)

VI.1.5.2. Carapace brute déminéralisée (CBDM)

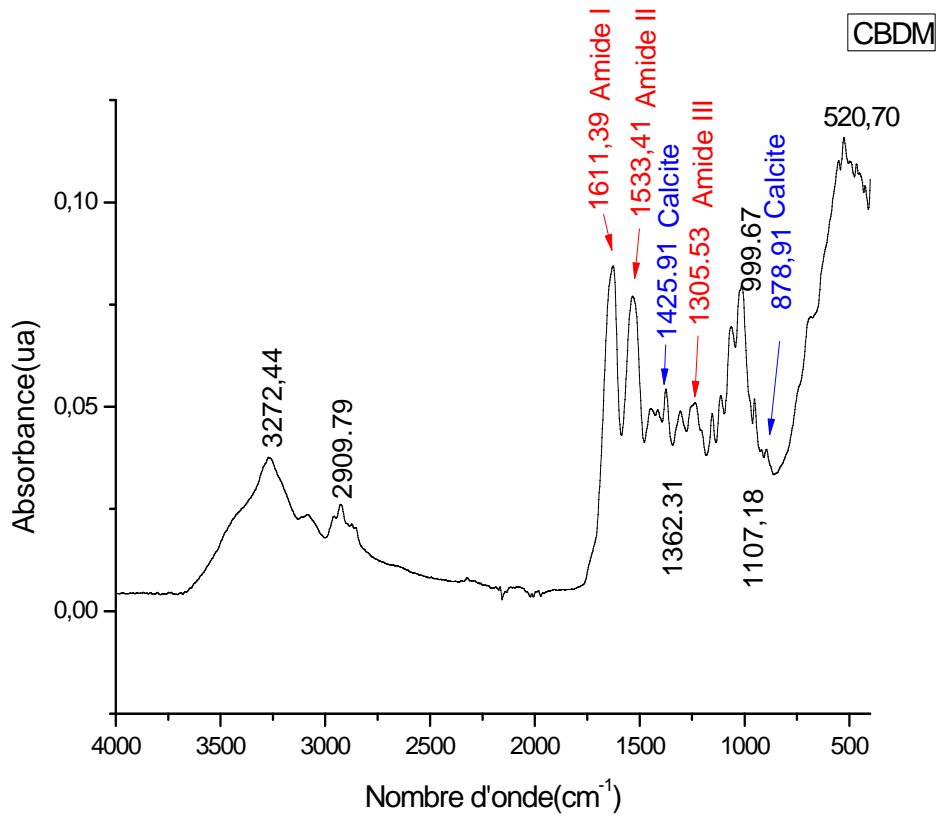
L'analyse par FTIR de la carapace déminéralisée présente d'autres pics comme le montre la figure VI.4a :

- pic intense à $1611,39\text{ cm}^{-1}$ caractéristique de l'amide I de l' α -chitine.
- disparition complète de tous les pics caractéristiques de la calcite.
- apparition du pic intense à $1533,41\text{ cm}^{-1}$ correspondant à l'amide II de l' α -chitine (figure VI.2).
- apparition du pic à 1305 cm^{-1} correspondant à l'amide III de l' α -chitine (figure VI.2).

La déminéralisation de la carapace, en milieu acide, a donc permis de débarrasser totalement la surface du biomatériau de la calcite, à augmenter considérablement l'intensité du pic de l'amide I et à dévoiler les autres pics caractéristiques de la chitine, à savoir, les amides II et III.

L'analyse par MEB de la carapace déminéralisée confirme l'absence de dépôts de la calcite et montre une augmentation du diamètre des pores (figure VI.4b) provoquée, probablement, par la libération des carbonates de calcium, suite à leur dissolution en milieu acide.

a)



b)

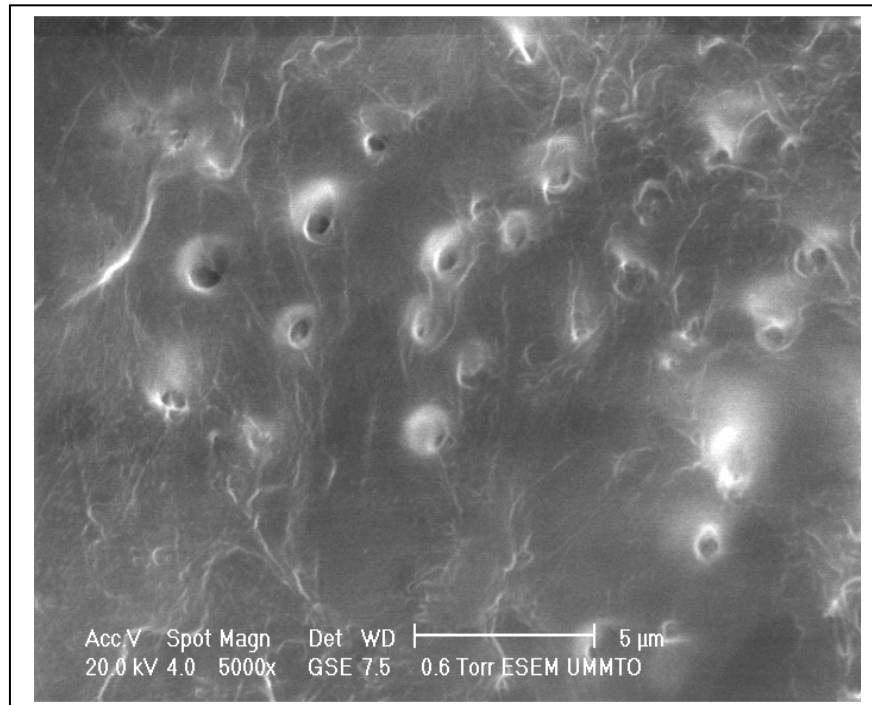


Figure VI.4 : Spectre FTIR (a) et micrographie de la carapace brute déminéralisée (CBDM)

VI.1.5.3. Carapace brute déminéralisée et désacétylée à 30°C et à différents temps

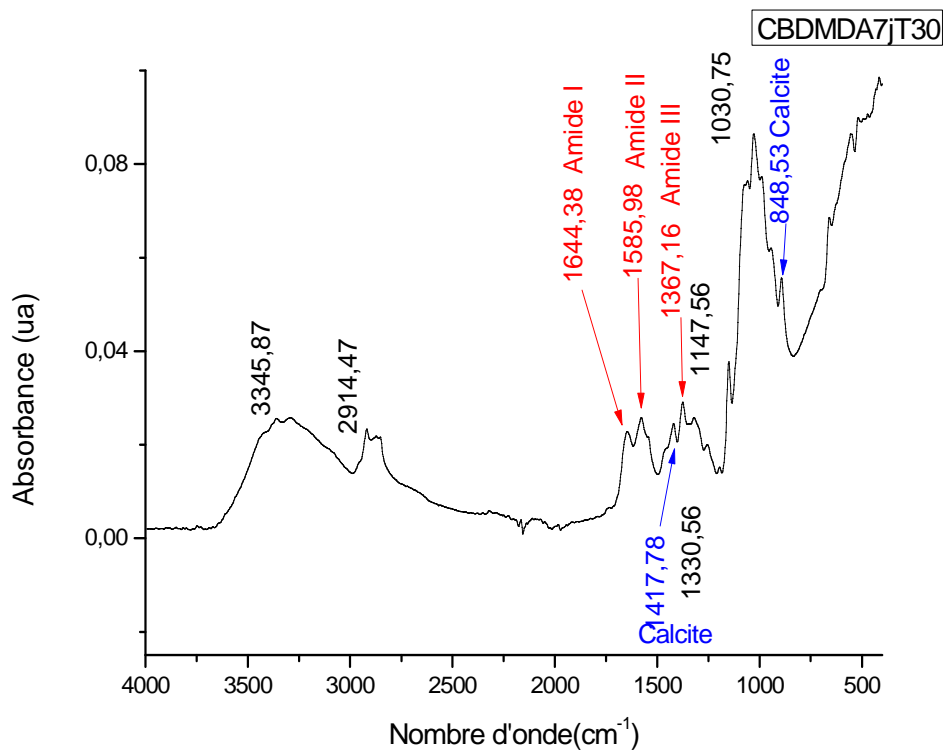
L'analyse par spectroscopie FTIR de la carapace déminéralisée et désacétylée à 30°C et à différents temps allant de 7 jours à 25 jours présente des spectres identiques comme le montrent les figures VI.5a-9a. En comparant au spectre du chitosane commercial (figure VI.10a), tous les échantillons préparés par le protocole A (**CBDMDA7jT30**, **CBDMDA11jT30**, **CBDMDA16jT30**, **CBDMDA22jT30** et **CBDMDA25jT30**) semblent présenter les mêmes pics et par conséquent les mêmes groupements fonctionnels. Nous pouvons prétendre que la carapace déminéralisée puis désacétylée dans nos conditions est du chitosane.

La désacétylation à 30°C de la carapace déminéralisée a conduit à la diminution de l'intensité de tous les pics présents ainsi qu'à l'apparition du groupement aminodu chitosane situé entre 1578 cm⁻¹ et 1586 cm⁻¹ masquant ainsi le groupement de l'amide II. D'après la bibliographie, ce même phénomène est obtenu dans le chitosane commercial.

Le temps de désacétylation n'a aucun effet sur la structure chimique du produit obtenu contrairement à la bibliographie qui signale assez souvent la dégradation de la chaîne polymérique lorsque la durée de désacétylation est longue (**Onsoyen et al, 1990**). L'explication que nous pouvons apporter c'est que la température de 30°C conserve la structure pendant de nombreux jours. Ce résultat est très intéressant, il démontre qu'il est donc possible de produire du chitosane à partir des déchets de crevettes par déminéralisation et désacétylation à température douce (30°C) et pendant 1 semaine.

L'analyse par MEB des échantillons préparés par le protocole A présente des morphologies identiques comme le montrent les figures VI.5b-9b. Leur surface est moins agressive et moins endommagée par le traitement basique que celle observée sur le chitosane commercial (figure VI.10b).

a)



b)

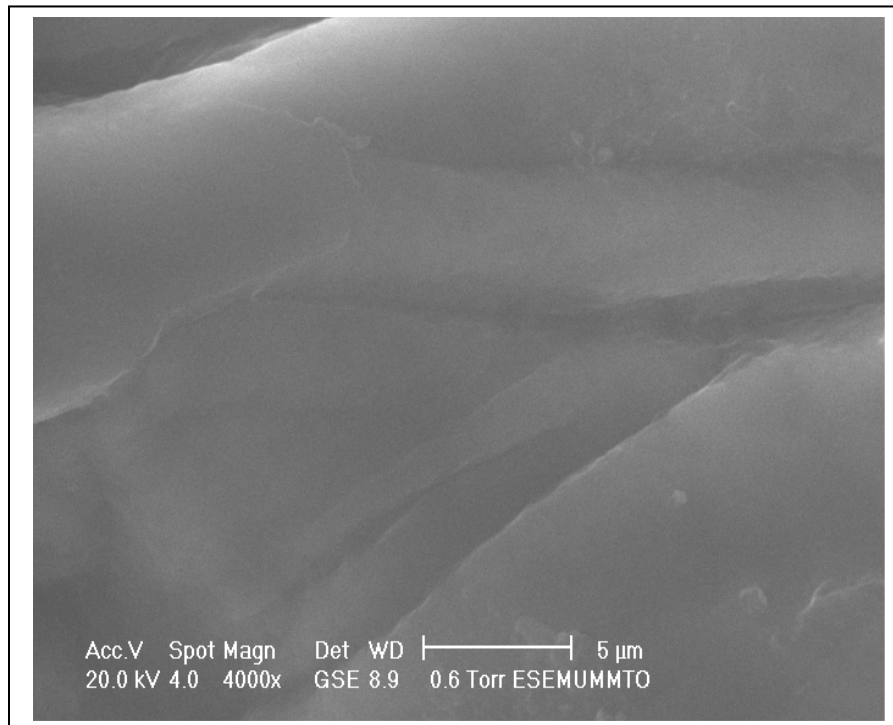
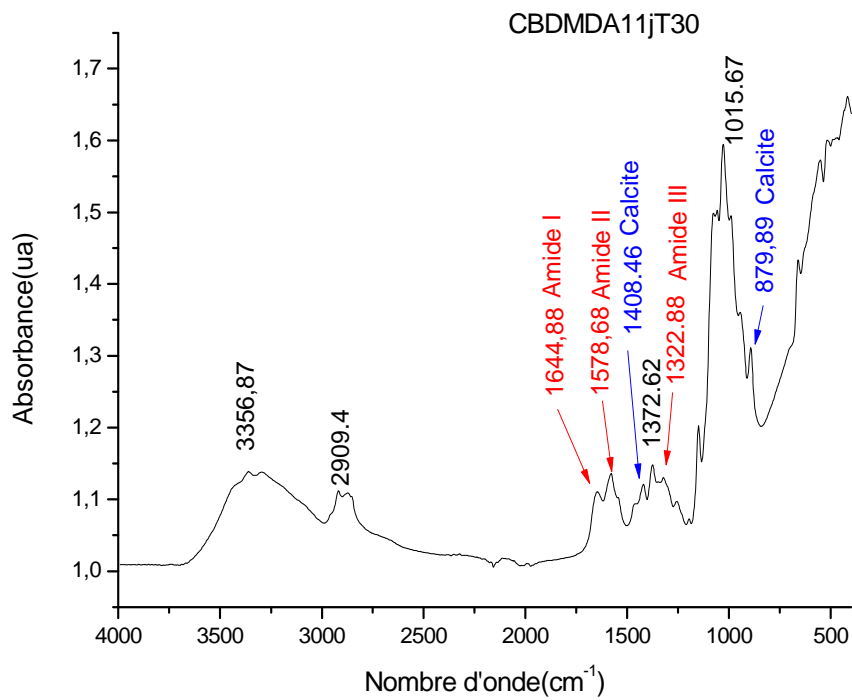


Figure VI.5 : Spectre FTIR (a) et micrographie (b) de la carapace déminéralisée et désacétylée pendant 7 jours à T=30°C (CBDMDA7jT30).

a)



b)

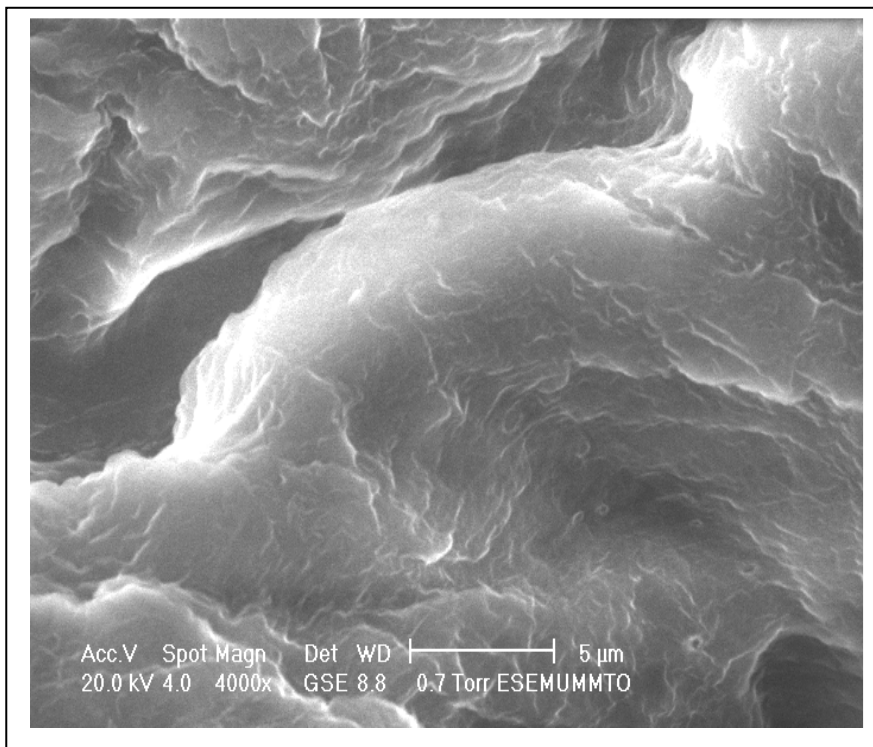


Figure VI.6 : Spectre FTIR (a) et micrographie de la carapace brute déminéralisée et désacétylée pendant 11 jours à T=30°C (CBDMDA11jT30)

a)

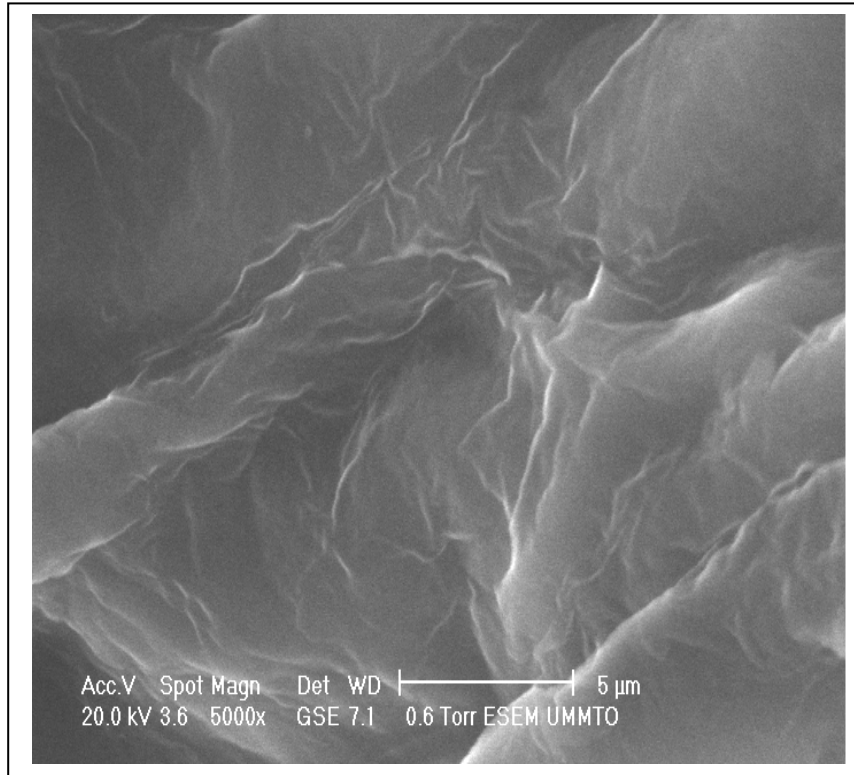
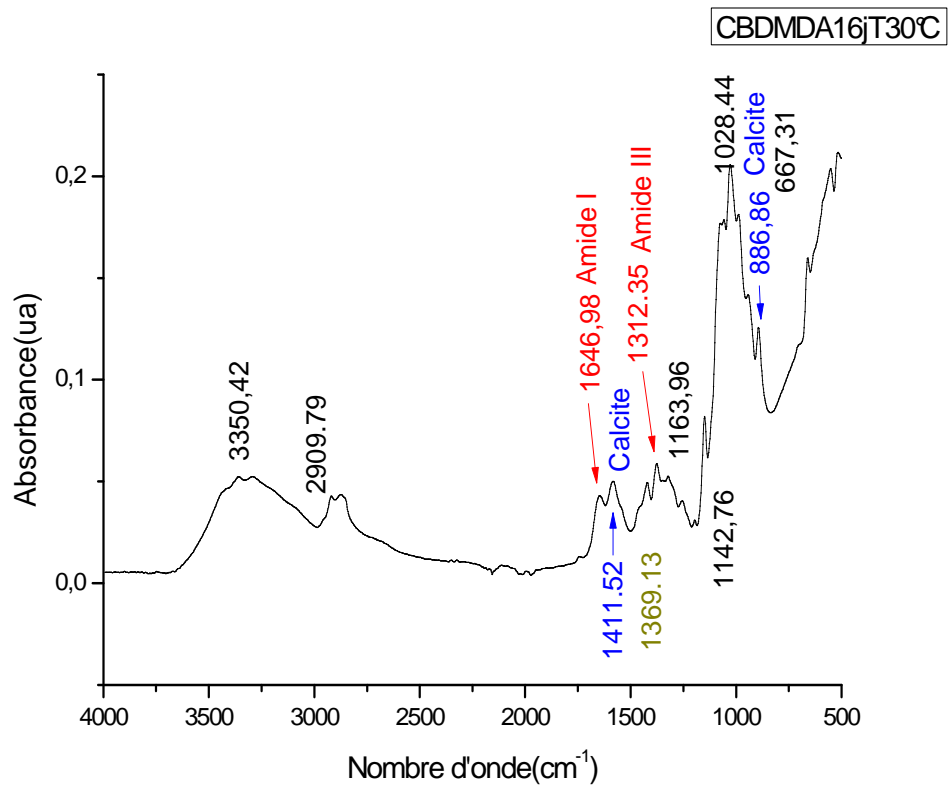
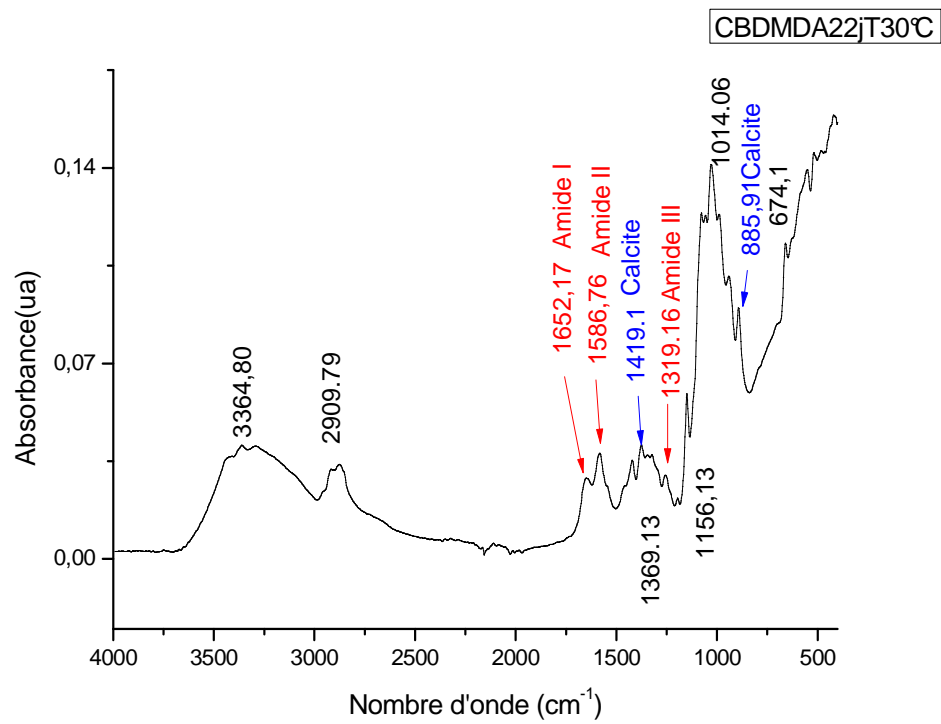


Figure VI.7 : Spectre FTIR (a) et micrographie (b) de la carapace déminéralisée et désacétylée pendant 16 jours à T=30°C (CBDMDA16jT30).

a)



b)

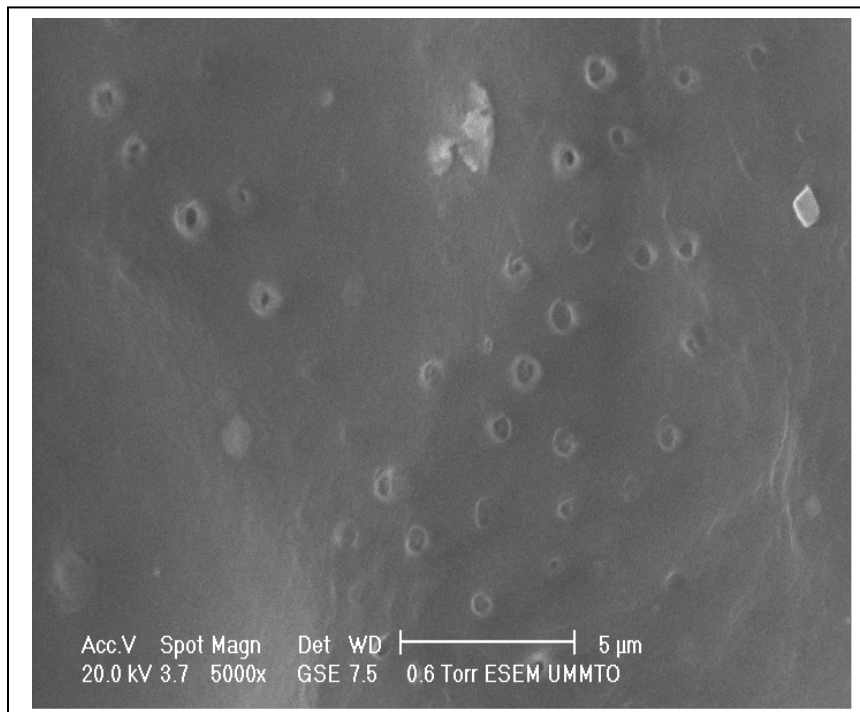
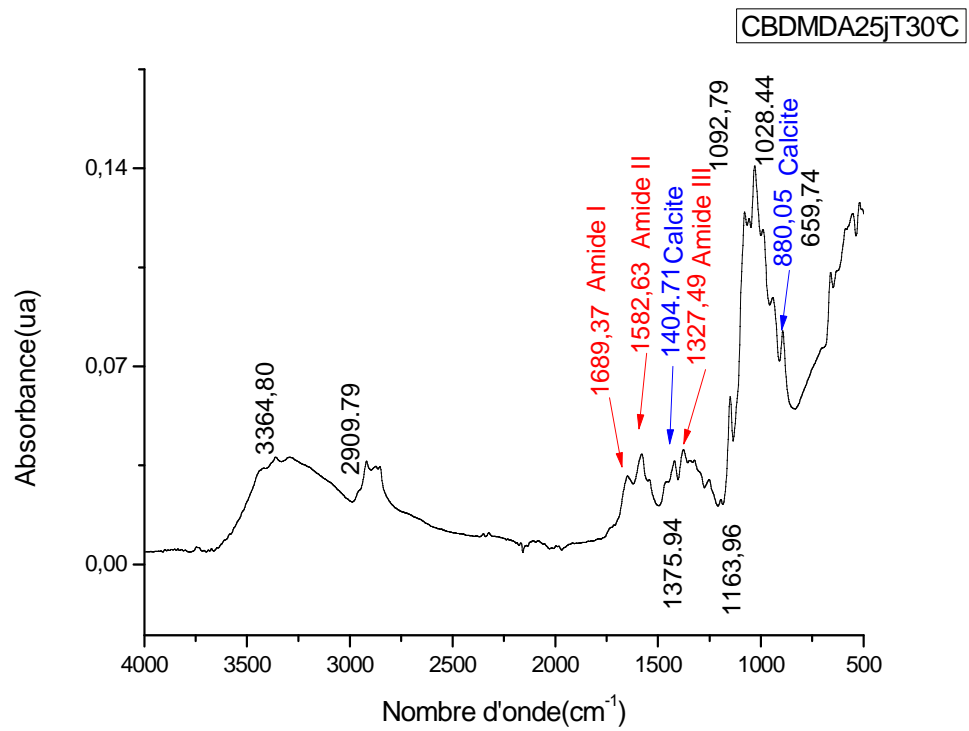


Figure VI.8 : Spectre FTIR (a) et micrographie (b) de la carapace déminéralisée et désacétylépendant 22 jours à T=30°C (CBDMDA22jT30).

a)



b)

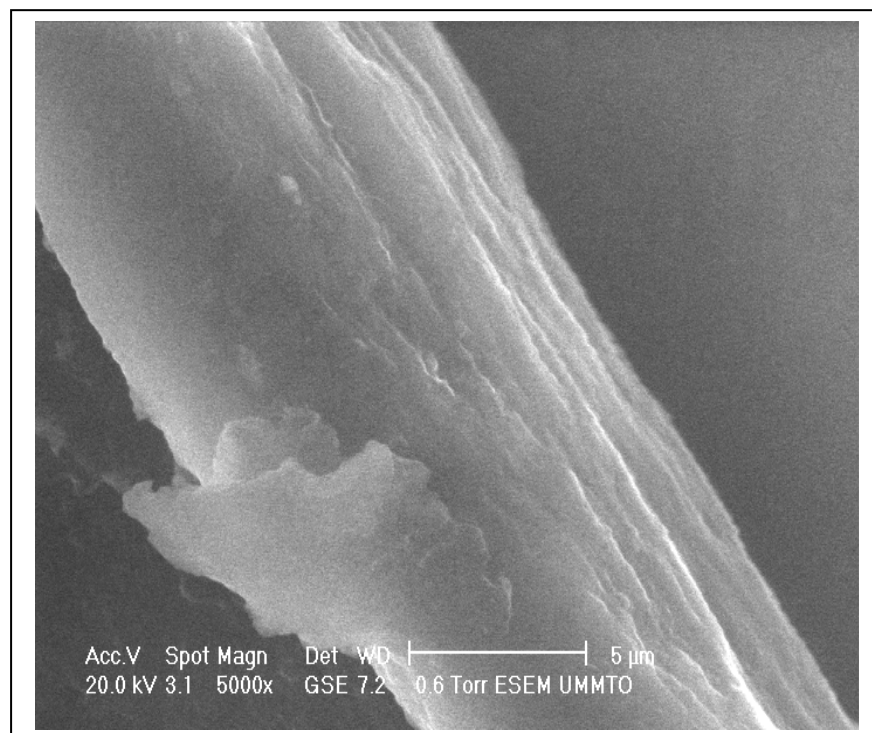


Figure VI.9 : Spectre FTIR (a) et micrographie (b) de la carapace déminéralisée et désacétylée pendant 25 jours à T=30°C (CBDMDA25jT30).

a)

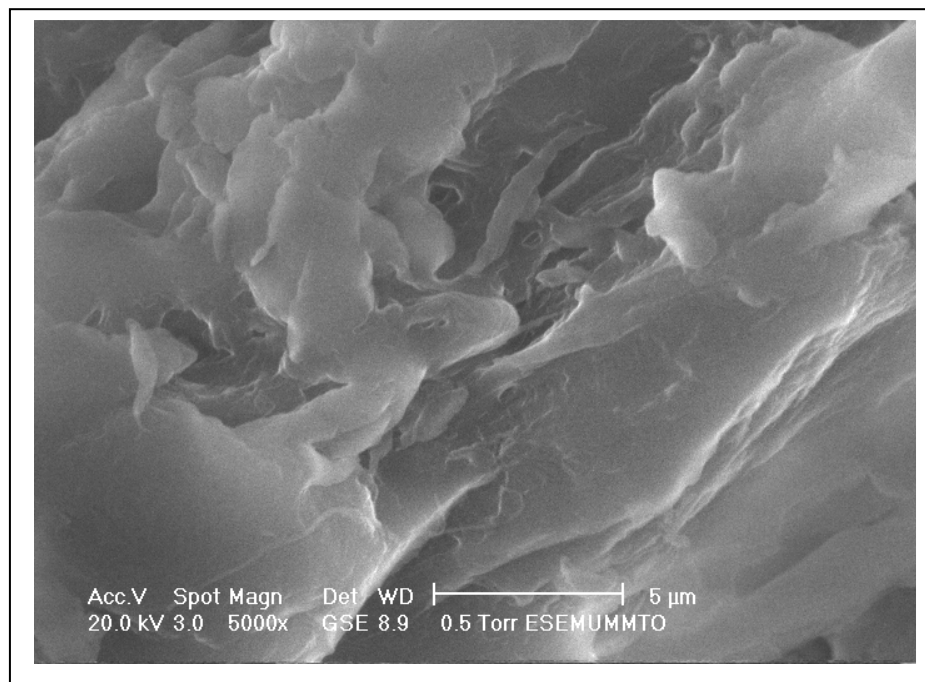
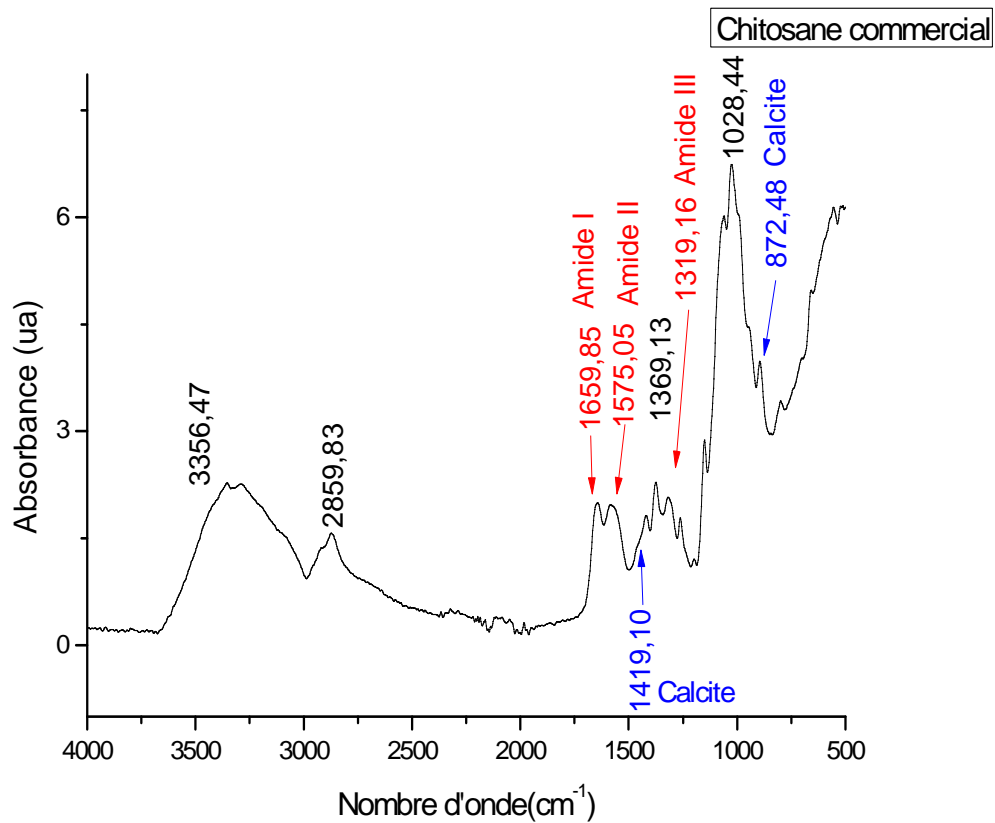


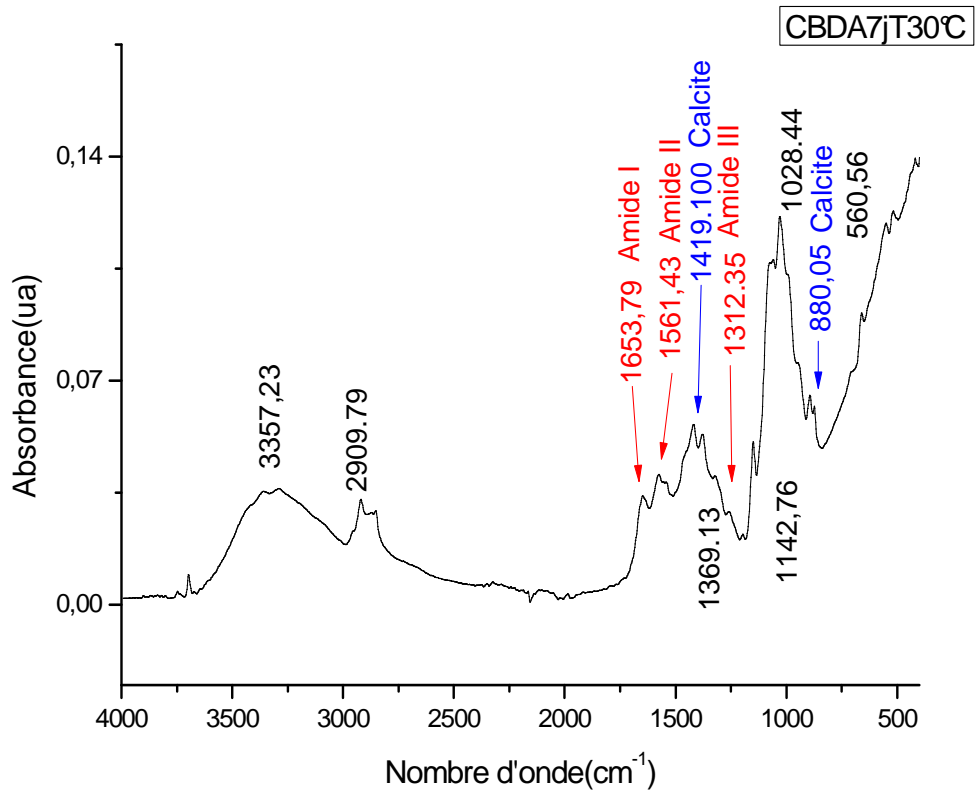
Figure VI.10: Spectre FTIR (a) et micrographie (b) duchitosane commercial (Sigma Aldrich)

VI.1.5.4. Carapace brute désacétylée à 30°C et à différents temps

Rappelons que dans le protocole B contrairement au protocole A, l'étape de déminéralisation a été éliminée. On fait, donc, subir à la carapace **CB** une désacétylation à 30°C et à différents temps allant de 7 jours à 25 jours. Les spectres présentés dans les figures VI.11a-15a montrent la présence de la calcite (figure VI.3) seulement dans certains échantillons tels que : **CBDA11jT30** et **CBDA22jT30**. Les autres échantillons (**CBDA7jT30**, **CBDA16jT30** et **CBDA25jT30**) manifestent un spectre presque semblable à celui du chitosane commercial (figure VI.10). Au cours du lavage à l'eau des produits désacétylés, les cristaux de minéraux réussissent parfois à être évacués de la surface des carapaces traitées. Cependant, ce phénomène n'est pas reproductible comme il a été démontré dans certains de nos échantillons.

Afin de pallier à ce problème, l'étape de déminéralisation est indispensable dans la préparation de ce polysaccharide pur à partir des crevettes.

L'analyse par MEB montre la présence de la calcite dans certains échantillons (figure VI.11b-15b). Ce résultat vient confirmer ce qui a été obtenu par FTIR.



b)

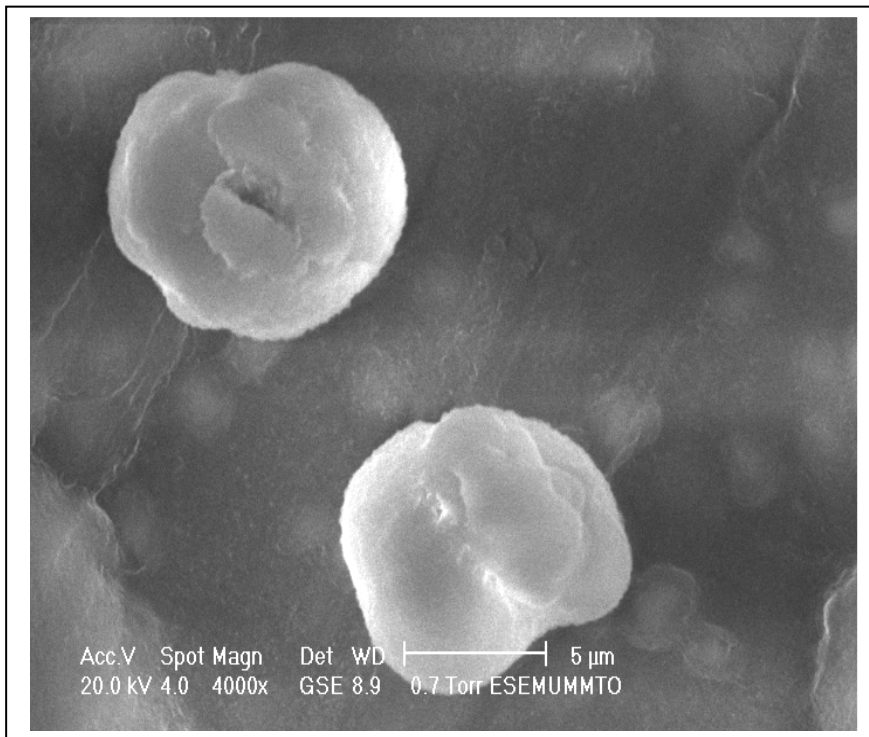


Figure VI.11 : Spectre FTIR (a) et micrographie (b) de la carapace désacétylépendant 7 jours à T=30°C (CBDA7jT30).

a)

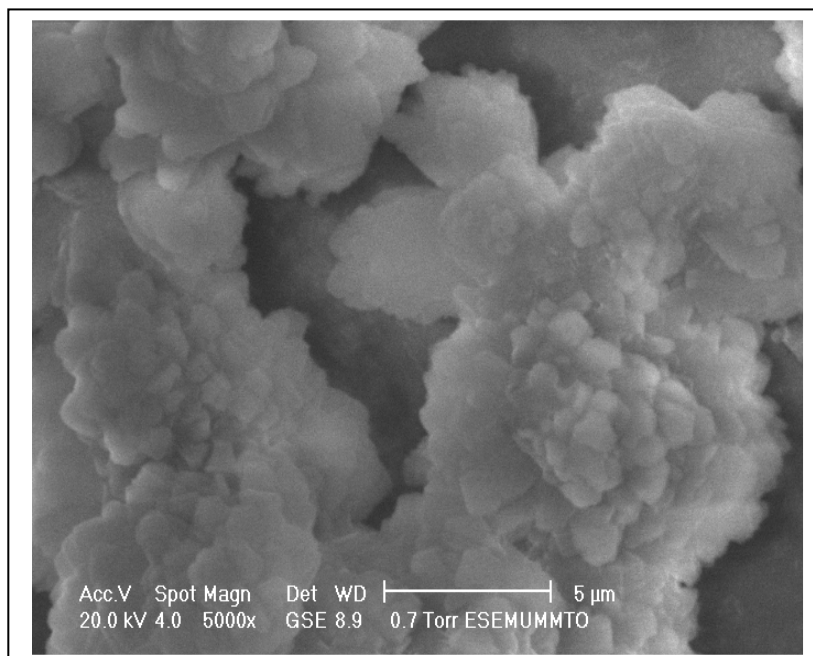
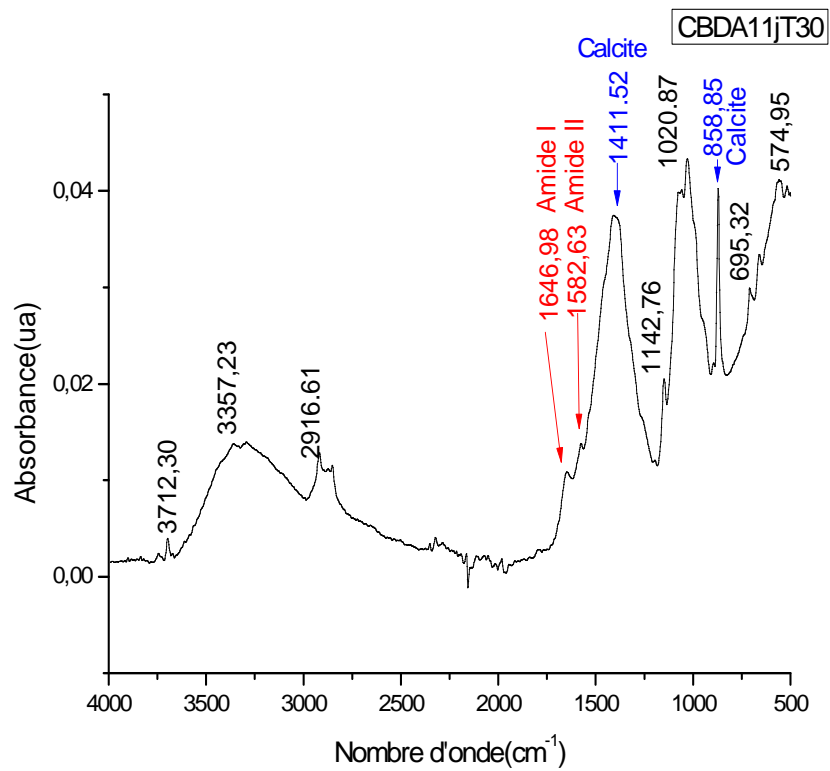
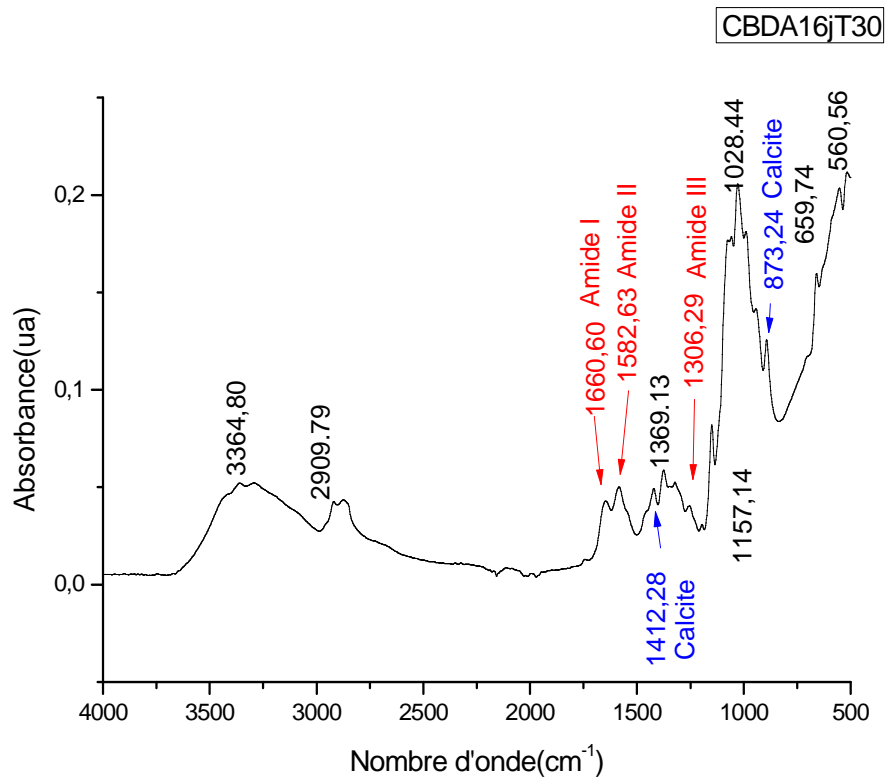


Figure VI.12 : Spectre FTIR (a) et micrographie (b) de la carapace désacétylée pendant 11 jours à $T=30^\circ\text{C}$ (CBDA11jT30).

a)



b)

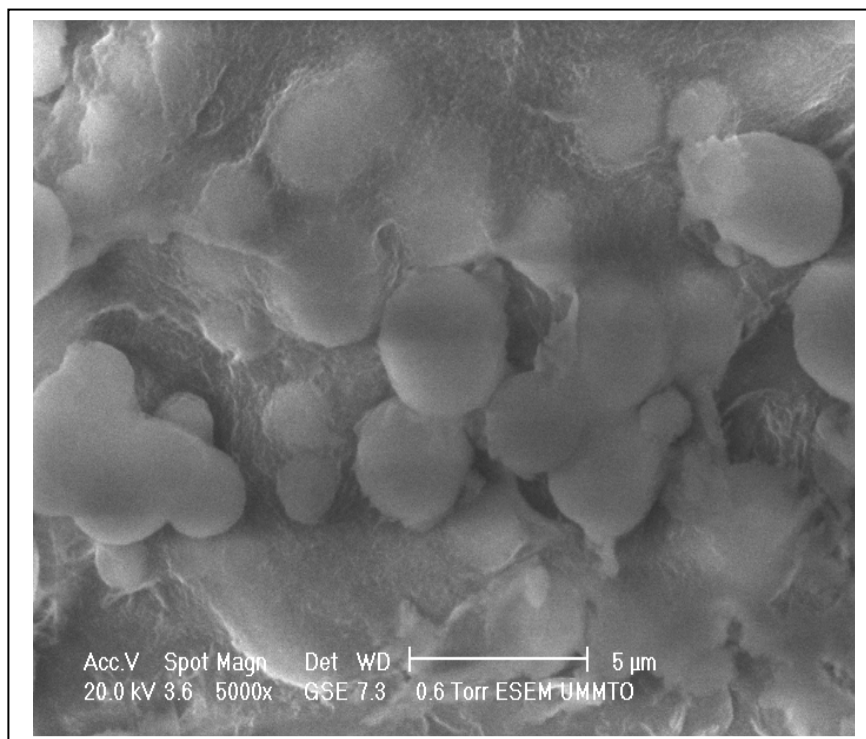


Figure VI.13: Spectre FTIR (a) et micrographie (b) de la carapacedésacétylépendant 16 jours à T=30°C (CBDA16jT30).

a)

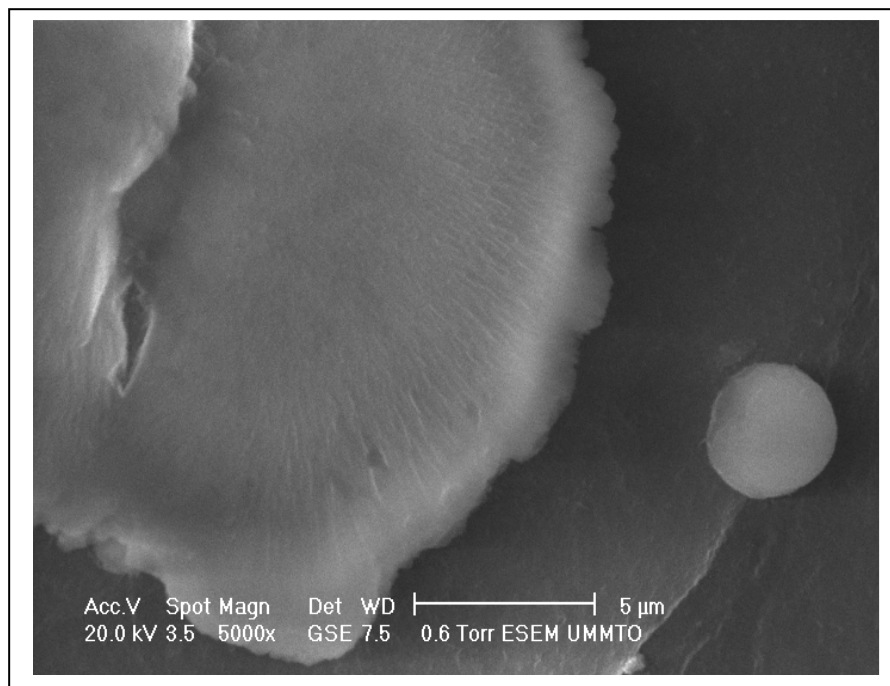
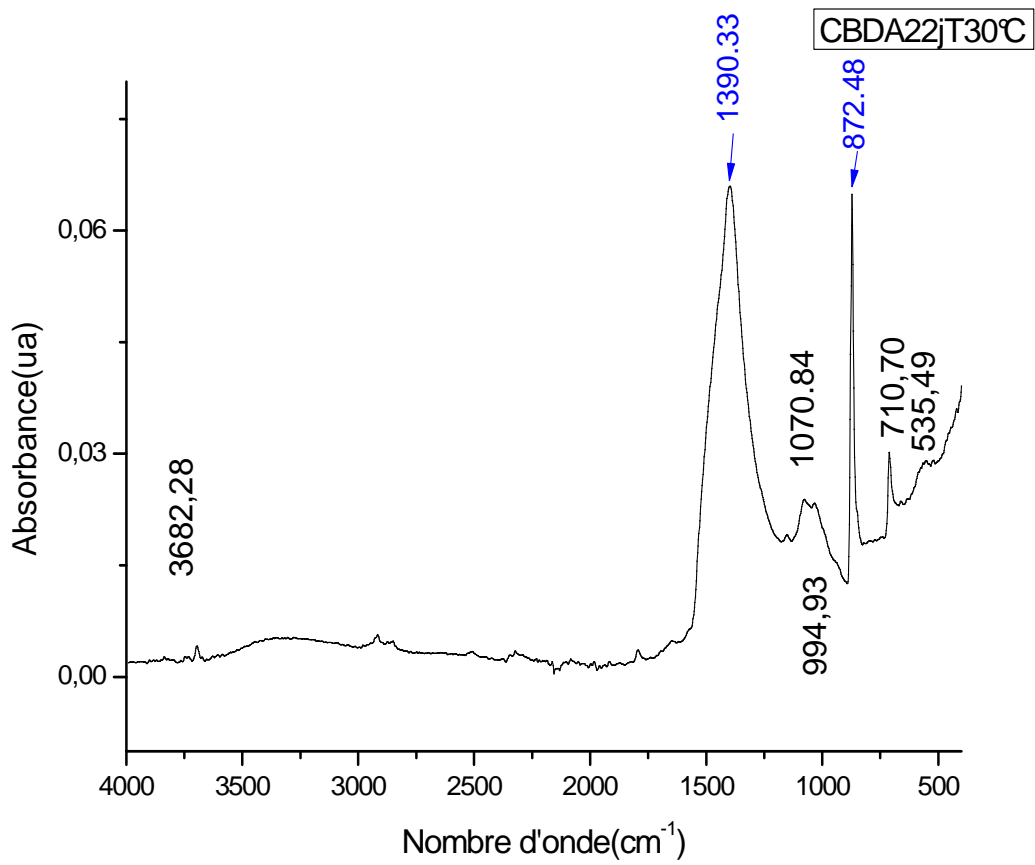
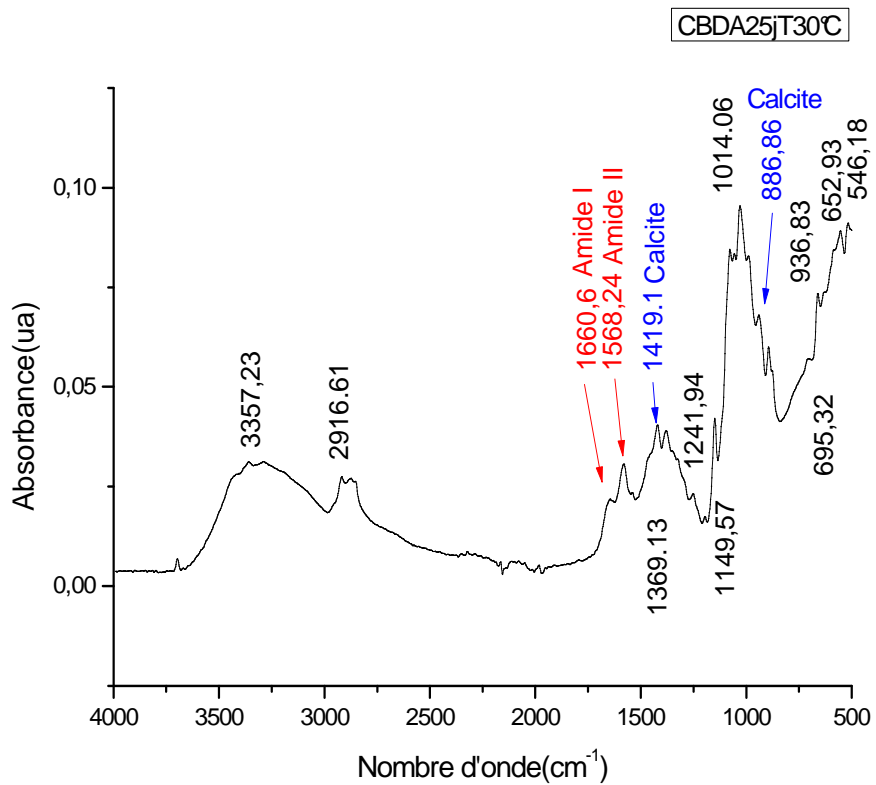


Figure VI.14: Spectre FTIR (a) et micrographie (b) de la carapace désacétylée pendant 22 jours à T=30°C (CBDA22jT30)

a)



b)

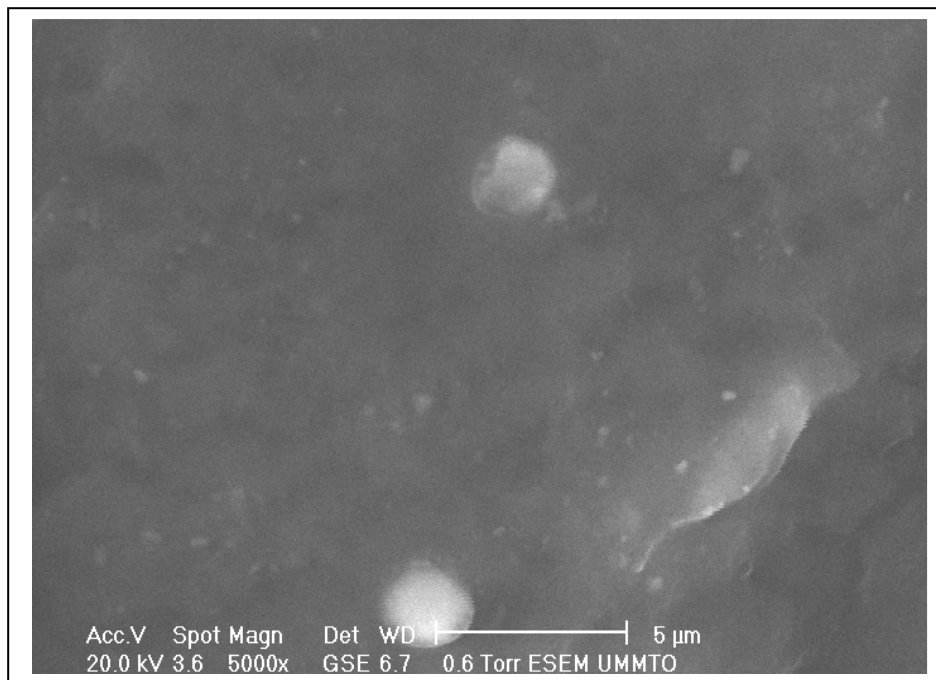


Figure VI.15: Spectre FTIR (a) et micrographie (b) de la carapace désacétylée pendant 25jours à T=30°C (CBDA25jT30).

VI.1.6. Caractérisation, par FTIR, de la structure de la carapace (brute, déminéralisée et désacétylée à $20\pm 3^\circ\text{C}$)

Cette 2^{ème} partie a été étudiée sur des crevettes pêchées en saison de printemps (juin 2014). La carapace prétraitée symbolisée par **CB*** présente le même spectre que celui donné sur la figure VI.1a. Cependant, sa déminéralisation effectuée dans les conditions optimisées par les travaux de Benhabiles (2013) conduit à un spectre différent de celui obtenu sur la figure VI.2 (**CBDM** préparée à partir des crevettes pêchées en hiver 2014). En effet, la figure VI.16 montre la présence de minéraux résiduels dans la carapace déminéralisée et symbolisée par **CBDM*** malgré le traitement acide. Ce résultat montre que la saison influe sur le traitement acide de la carapace. En effet, plus la teneur en minéraux est élevée (cas des crevettes pêchées en printemps) plus la déminéralisation est difficile.

La désacétylation réalisée pendant plusieurs jours à température ambiante $20\pm 3^\circ\text{C}$ sur les carapaces **CB*** et **CBDM*** produit, d'après les spectres donnés en annexe C, probablement du chitosane mais avec un taux élevé d'impuretés causés par les carbonates. En effet, la soude utilisée semble présenter un taux de carbonates de 2% (masse /masse). Lors de la désacétylation avec 40% (masse /masse) de NaOH, il se produit une nouvelle fixation des carbonates sur le matériau aussi bien sur la carapace brute **CB*** que sur la carapace déminéralisée **CBDM***. Sur 1 gramme de carapace désacétylée, il y a au maximum 40% de carbonates présents. Ceci explique les spectres obtenus (voir annexe C).

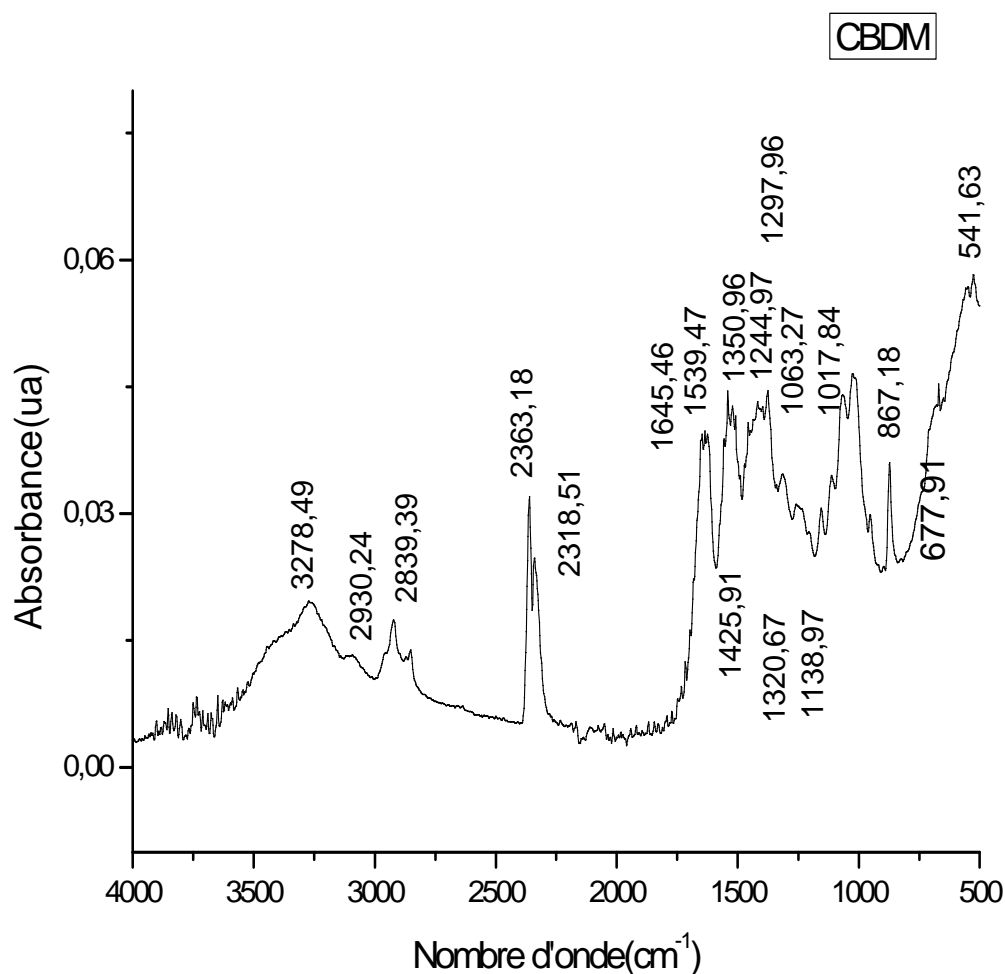


Figure VI.16 : Spectre FTIR de la carapace brute déminéralisée (CBDM*)

* : crevette récoltée dans la région d’Azzefounen printemps 2014.

Afin de pallier à ce problème, l’utilisation des réactifs exempts de minéraux est nécessaire pour une isolation de chitosane pur à partir des carapaces de crevettes.

VI.1.7. Détermination de DDA des chitosanes par différentes méthodes

Le degré de désacétylation (DDA) a été évalué sur du chitosane le plus proche du **ChitosCom** donc il s’agit des échantillons préparés à partir de la carapace traitée par déminéralisation suivie de la désacétylation à 30°C (protocole A). Dans cette étude, 03 méthodes ont été utilisées: spectroscopie FTIR, dosage pH-métrie et dosage conductimétrie. Les résultats sont rassemblés dans le tableau VI.9.

Le calcul de DDA a été fait, par FTIR, pour tous les échantillons préparés selon le protocole A et par les méthodes de dosage pour seulement quelques-uns.

Chapitre VI : Résultats et discussion

Par spectroscopie FTIR, les échantillons présentent tous un même degré de désacétylation avoisinant les 80% et ce pour toutes les durées de désacétylation. Cette valeur est similaire à celle calculée pour le chitosane commercial(75,86%). Nous sommes donc certains que les produits **CBDMDAtjT30** sont du chitosane.

Par la méthode conductimétrique, les résultats de DDA pour les 02 échantillons **CBDMDA11jT30** et **CBDMDA16jT30** sont presque identiques à ceux obtenus par FTIR. Par la méthode pH-métrique, les valeurs de DDA sont, au contraire, très différentes (plus petites que ceux trouvés par FTIR) pour les échantillons **CBDMDA16jT30** et **CBDMDA22jT30**. Les résultats de calcul sont donnés dans les annexes (annexe A et annexe B, respectivement).

Tableau VI.9a : Les valeurs de DDA des échantillons préparés selon le protocole A

	Durée de désacétylation(jours) (CBDMDAtjT30)				
	7	11	16	22	25
méthode FTIR					
DDA (%)	79.60	80.61	78.20	79.12	80.46
méthode pH-métrique					
DDA (%)			64.05	66.99	
Méthode conductimétrique					
DDA (%)		77.5	76.25		

Sans étape de déminéralisation les échantillons préparés par DA présentent un degré de désacétylation voisines et égale à 80% quelque soit la durée de traitement

Tableau VI.9b : Les valeurs de DDA par FTIR des échantillons préparés selon le protocole B

	Durée de désacétylation(jours) (CBDAjT30)				
	7	11	16	22	25
DDA(%)	79,17	78,84	79,79	79,08	79,65

VI.1.8. Détermination de l'indice de cristallinité des chitosanes par FTIR

La spectroscopie FTIR nous a permis, en plus de la DDA, de calculer l'indice cristallinité (I_{cr}). Nos échantillons présentent un indice de cristallinité variable entre 1.03 et 1.44 alors que pour le chitosane commercial il est de 1.13 (tableau VI.10). Nous pouvons dire que nos échantillons manifestent une cristallinité presque similaire au **ChitosCom**.

Tableau VI.10a : Les valeurs de I_{cr} des échantillons préparés selon le protocole A

	Durée de désacétylation(jours) (CBDMDA t jT30)					Chitosane commercial
	7	11	16	22	25	
I_{cr}	1.19	1.03	1.44	1.33	1.10	1.13

Tableau VI.10b : Les valeurs de I_{cr} des échantillons préparés selon le protocole B

	Durée de désacétylation(jours) (CBD A tjT30)				
	7	11	16	22	25
I_{cr}	1,58	2,91	1,10	1,03	1,44

VI.1.9. Détermination du poids moléculaire des chitosanes par viscosimétrie

La valeur du poids moléculaire (PM) d'un chitosane dépend intimement du procédé de préparation, car celui-ci peut induire une dépolymérisation des chaînes macromoléculaires et/ou une dégradation lors de sa production (Jia et Shen, 2002). Les chaînes macromoléculaires du chitosane ont généralement un PM de l'ordre de 100 à 1500 kDa (Crini et al., 2009). Ces poids déterminent l'application désirée pour le chitosane

Dans notre étude, les carapaces traitées selon le protocole A (**CBDMDA11jT30**, **CBDMDA22jT30** et **CBDMDA25jT30**) conduisent à des chitosanes de même degré de DDA (80%) mais de poids moléculaire variable en fonction de la durée de désacétylation (tableau VI.11a). Il y a diminution du poids moléculaire pendant 25 jours. A partir de 22^{ème} jour de DA, un poids moléculaire similaire au chitosane commercial peut être obtenu (environ 500 KDa).

Chapitre VI : Résultats et discussion

Les poids moléculaire des échantillons préparés par le protocole B (tableau VI.b) sont proche de chitosane commercial même sans l'étape de déminéralisationproblament les minéraux sans débarrassés avec le lavage.

Le chitosane préparé, selon les 2 protocoles età partir de 11 jours de désacétylation devrait présenter un poids moléculaire conseillé par (Crini et coll., 2009) pour le traitementdes eaux. D'après cet auteur, des PM compris entre 100 et 500 KDaprocurentaux chitosanes un bon comportement au niveau de la floculation.

Tableau VI.11a :Les valeurs de PM des échantillons préparés selon le protocole A

Echantillo ns	CBDMDA11jT 30	CBDMDA22jT 30	CBDMDA25jT 30	Chitosanecommerci al
Viscosité intrinsèque (dl.g ⁻¹)	0,97	0,65	0,54	0,61
PM (KDa)	963,07	540,75	427,15	505,89

Tableau VI.11b :Les valeurs de PM des échantillons préparés selon le protocole B

Echantillons	CBDA11jT30	CBDA22jT30	CBDA25jT30
Viscosité intrinsèque (dl.g ⁻¹)	0,87	0,59	0,53
PM (KDa)	882,08	483,02	416,21

VI.2. Application des chitosanes dans le conditionnement des boues de la STEP Est de la ville de Tizi-Ouzou

Le conditionnement des boues est une étape clé dans la déshydratation et le séchage de boues. La taille et la répartition des particules d'une suspension est une propriété fondamentale pour l'efficacité de la déshydratation. Le but du conditionnement est d'augmenter la taille des particules en combinant les petites particules en particules plus grosses.

L'objectif visé dans ce mémoire est d'étudier la performance des chitosanespréparés comme biofloculant dans le conditionnement des boues urbaines. Pour cela, la caractérisation

physico-chimique a été effectuée, pour mettre en évidence la nature des boues urbaines prélevées de la STEP et de choisir, par conséquent, leur traitement convenable.

Des expériences de coagulation-floculation ont permis d'étudier l'efficacité d'un chitosane additionné par rapport à sans ajout de floculant puis de comparer le comportement des différents chitosanes entre eux : le chitosane commercial (Fluka) noté **ChitosCom** et les quelques chitosanes préparés **CBDMDA7jT30** et **CBDA7jT30** au laboratoire à partir des carapaces de crevettes. Le choix de ces 02 biopolymères réside dans leur poids moléculaire élevé (tableaux VI.11 a et b) pouvant agir plus efficacement dans la formation des floccs facilement décantables.

VI.2.1. Caractérisation physico-chimique des boues

La boue prélevée, à la sortie de l'épaississeur de la STEP Est de la ville de Tizi-Ouzou, en mai 2014 présente des caractéristiques regroupées dans le tableau VI.12. Cette boue à aspect épais a été utilisée dans les essais de conditionnement biologique par des chitosanes préparés **CBDMDA7jT30** et **CBDA7jT30** et le chitosane commercial **ChitosCom**.

Tableau VI.12: Caractéristiques physico-chimiques de la boue épaissie (prélevée en mai 2014, STEP Est de Tizi-Ouzou)

Paramètres	Valeurs
T(°C)	22
Siccité (%)	3,49
pH	7,20
MVS (%)	4,16
MS (g/l)	34,57

L'élément le plus à considérer dans le cas de l'étude de la déshydratabilité des boues est le rapport MVS/MS, il permet de mettre en évidence la nature des boues et le traitement adéquat (**Degrémont, 2005**). En effet, si le rapport percentile MVS/MS est compris entre 50 et 70%, les boues présenteront un caractère fortement organique et donc l'usage des polyélectrolyte cationiques s'imposerait. Les polymères anioniques présenteraient, au contraire, une action défavorable, singulièrement à dosage élevé.

Tandis que si le même rapport (MVS/MS) est compris entre 30 et 35%, les boues prédominantes sont de matières minérales, les polyélectrolyte anioniques y sont alors

plus efficaces. Toutefois, l'excès de ces réactifs au-delà d'une concentration optimale, est préjudiciable (Degrémont, 2005).

Les boues de cette étude présente un rapport MVS/MS de 47,67%. Elles sont donc de nature organique, le traitement utilisant les polymères cationiques (le chitosane) est par conséquent convenable. Elles présentent un pH de 7,2, une siccité de 3,49% correspondant à 96,5% d'humidité et elle renferme des matières sèches de 34,57g par litre de milieu.

VI.2.2. Etude du conditionnement et de la déshydratation

Rappelons que le conditionnement et la déshydratation des boues sont réalisés par coagulation-floculation et filtration sur papier, respectivement. Dans ce mémoire, pour chaque chitosane, un seul paramètre a été varié à savoir la dose de la solution de coagulant à injecter dans la boue épaissie. Pour cela, plusieurs doses ont été étudiées : 0.5 ; 1 et 2 mg de chitosane par g de MS. Pour chaque essai, le gâteau et le filtrat ont été récupérés et caractérisés séparément. Les paramètres étudiés sont la siccité du gâteau, le volume, la turbidité, les MES et le pH du filtrat. Ce sont des indicateurs de la qualité de traitement adopté.

VI.2.2.1. Influence de la dose des flocculants sur la siccité du gâteau

Le calcul de la siccité est indispensable, elle nous renseigne sur la qualité de la déshydratation du gâteau. Plus elle est élevée plus le gâteau est sec. La figure VI.17 représente l'évolution de la siccité (Sc) du gâteau en fonction de la dose de chaque flocculant testé.

Figure VI.17 : Evolution de la siccité du gâteau en fonction de la dose et pour les différents flocculants **CBDMDA7jT30**; **CBDA7jT30** et **ChitosCom**

La boue non filtrée manifeste une siccité de 3,5%, après déshydratation par simple filtration celle-ci augmente pour atteindre 9,68%.

L'ajout des chitosanes semble améliorer la siccité. En effet, pour **CBDMDA7jT30**, Sc augmente en fonction de la dose : elle atteint 14,48% à la dose de 2mg de chitosane /g MS. Il y a eu donc une amélioration de 49,6%.

Avec **CBDA7jT30**, le phénomène est inversé : de faible dose en ce chitosane est suffisant pour augmenter Sc , elle est de 11,5% à la dose de 0,5mg de chitosane /g MS. Il y a eu donc une faible amélioration de 18,8%, comparativement au **CBDMDA7jT30**. Aux doses supérieures à 0,5mg /g MS, la siccité diminue lentement. Probablement, ils se produit une auto-coagulation du biopolymère souvent cité dans la bibliographie (Crini et al., 2009).

En comparant les chitosanes préparés au **ChitosCom**, il y a augmentation de Sc avec la dose jusqu'à 1mg de chitosane /g MS correspondant à 13,23%. Dans ce cas, l'amélioration est de 36,7%. La dose élevée de 2mg /g MS réduit la siccité et par conséquent la déshydratation de la boue. L'auto-coagulation des particules de chitosane commercial présentes en quantité importante dans le milieu peut être la cause de son inefficacité.

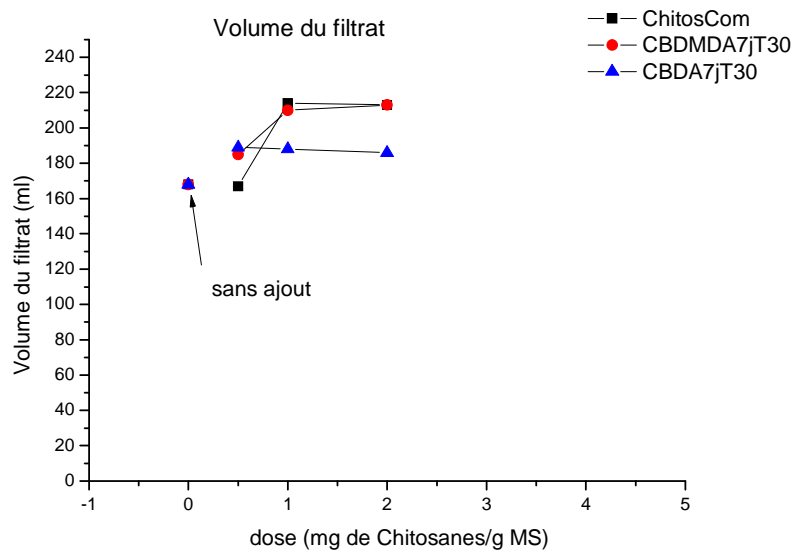
Nos résultats ont été comparés avec ceux obtenus par Zemmouri (2012). Dans ces travaux, une siccité maximale de 17,42% a été obtenue à la dose de 1,73 mg de chitosane commercial /g MS par le procédé de centrifugation, ainsi qu'une siccité maximale encore plus importante de 35,01% à la dose de 4,8 mg chitosane commercial/g MS par le procédé de filtration sous-pression.

L'efficacité des chitosanes préparés au laboratoire a été prouvée avec succès principalement avec **CBDMDA7jT30**. L'augmentation de la dose au delà de 2mg/g MS peut éventuellement améliorer la déshydratation de la boue et atteindre les valeurs de la siccité obtenue par filtration sous pression (**Zemmouri, 2012**).

VI.2.2.2. Influence de dose de flocculants sur le volume du filtrat

En absence de flocculant, le volume du filtrat est de 168ml. Le conditionnement par les chitosanes a donné les résultats présentés dans la figure VI.18. L'ajout des chitosanes semble améliorer le volume après déshydratation. Sa variation est similaire à celle de la siccité. En effet, pour **CBDMDA7jT30** et **ChitosCom**, le volume atteint 214ml à la dose de 2mg /g MS et de 1mg /g MS, respectivement.

Avec **CBDA7jT30**, il est de 188ml à la dose faible de 0,5mg /g MS. Au-delà, le volume



est stable.

Figure VI.18 : Evolution du volume du filtrat en fonction de la dose pour les différents floculants **CBDMDA7jT30**; **CBDA7jT30** et **ChitosCom**

VI.2.2.3. Influence de la dose de floculants sur la turbidité et les MES du filtrat

Les MES de filtrat varient dans le même sens que la turbidité. Les figures VI.19 et VI.20 montrent la modification physico-chimique au sein du filtrat lorsque des chitosanes ont été ajoutés à la boue épaisse.

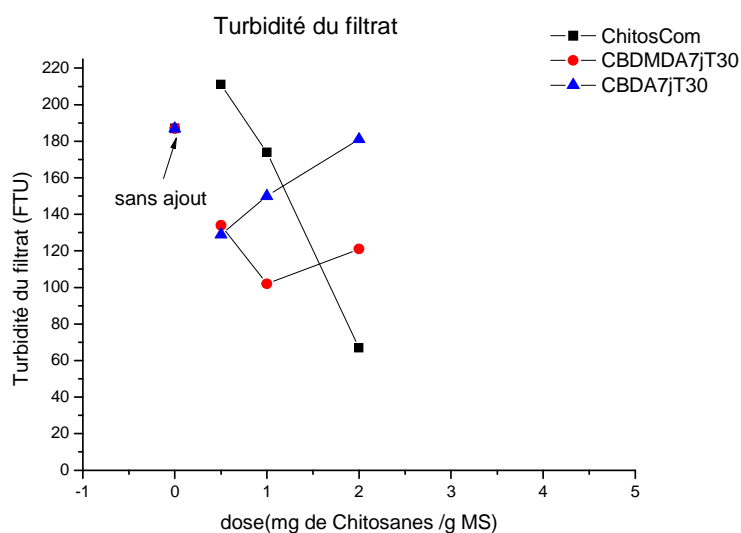


Figure VI.19 : Evolution de la turbidité du filtrat en fonction de la dose pour les différents floculants **CBDMDA7jT30**; **CBDA7jT30** et **ChitosCom**

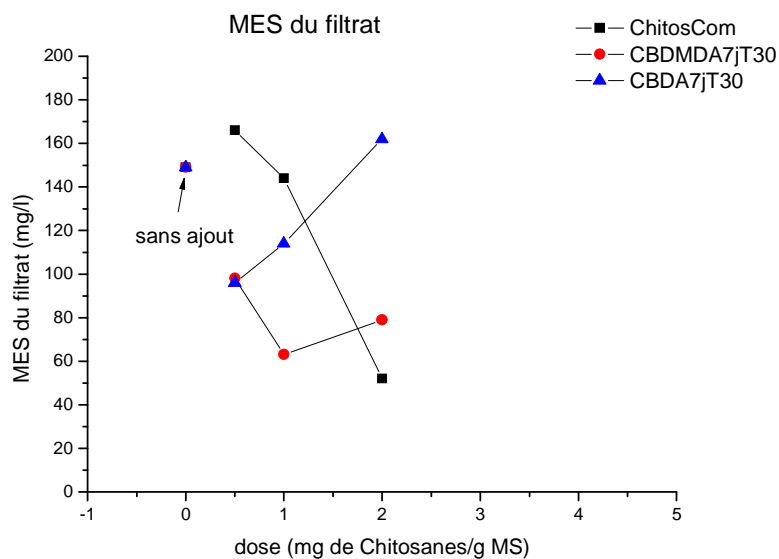


Figure VI.20 : Evolution desMES du filtrat en fonction de la dose pour les différents flocculantsCBDMDA7jT30; CBDA7jT30 et ChitosCom

Avec un gâteau suffisamment déshydraté par l'ajout de chaque chitosane, la turbidité ou les MES du filtrat restent toujours inférieurs aux valeurs obtenus sans ajout de flocculant. Les différents chitosanes utilisés ont donc permis de mieux coaguler les particules présentes dans la boue épaisse.

VI.2.2.4. Influence de la dose de flocculants sur le pH du filtrat

En absence de flocculant, le pH du filtrat est de 7,24. Après ajout de chitosanes, son pH diminue légèrement pour varier entre 6,04 et 7,06 aux doses utilisées (0,5-2 mg/g MS) (Figure VI.21). Cette faible acidification est due à l'acide acétique (1%) utilisé pour solubiliser les chitosanes.

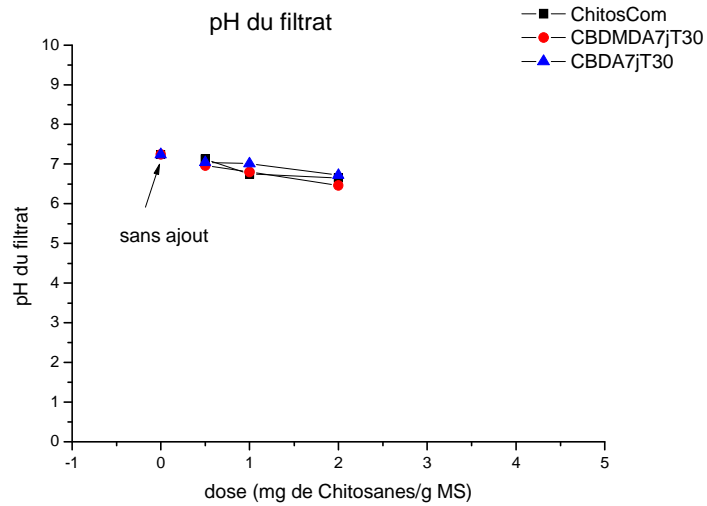


Figure VI.21 : Evolution du pH de filtrat en fonction de la dose pour les différents flocculants CBDMDA7jT30; CBDA7jT30 et ChitosCom

Conclusion générale

Conclusion générale

Dans le but de porter une contribution à la protection de l'environnement, en général, et au traitement des eaux usées urbaines, en particulier, que nous avons orienté ce travail vers le conditionnement-déshydratation des boues sortantes de l'épaississeur de la STEP Est de la ville de Tizi-Ouzou par une méthode écologique utilisant un biopolymère comme biocoagulant-biofloculant.

La première partie de l'étude a consisté à la préparation par voie directe de chitosane à partir des crevettes blanches *Parapenaeus longirostris* pêchées sur le littoral d'Azzefoun. La technique proposée est différente de la méthode conventionnelle par la réduction des étapes de traitement chimique en 01 seule ou 02 étapes. En général, 04 étapes sont nécessaires pour produire du chitosane commercial : la déminéralisation, la déprotéinisation, la décoloration et la désacétylation. L'inconvénient de la technique classique est la dégradation des chaînes polymériques dans le chitosane provoquant ainsi une diminution de son poids moléculaire et une perte d'efficacité dans la biofloculation.

Les essais expérimentaux ont montré la possibilité de produire du chitosane en faisant subir à la biomasse marine 02 protocoles opératoires : une déminéralisation suivie d'une désacétylation (protocole A à 02 étapes) et seulement une désacétylation (protocole B à 01 étape). A cet effet, la cinétique de désacétylation a été suivie, pendant 35 jours, à 02 températures différentes 23°C et 30°C, choisies par rapport aux moyennes approximatives de températures du climat dans le bassin méditerranéen. La désacétylation a été réalisée dans un milieu fortement alcalin (40% de NaOH), ces conditions ont été fixées de façon à réduire les dépenses d'énergie et les quantités de réactifs tout en respectant l'environnement contrairement à ce qui se fait habituellement (températures entre 120 et 140°C et 45% de NaOH).

L'étude a montré que l'étape de déminéralisation-lavage-filtration provoque une diminution de la masse de la carapace de 50% en moyenne et que le protocole A comparativement au protocole B génère une quantité plus importante d'effluents en raison du nombre plus élevé d'étapes chimiques.

L'analyse physico-chimique de la carapace de crevette *Parapenaeus longirostris* montre la présence d'une teneur assez importante de minéraux variable selon les saisons : 29 % dans CB (janvier 2014) et 32 % dans CB* (juin 2014).

Conclusion générale

Dans les essais où la température de désacétylation est de 30°C, les résultats des spectres FTIR et des micrographies MEB obtenus pour tous les échantillons déminéralisés (Benhabiles, 2012) au préalable (**CBDMDA7jT30**, **CBDMDA11jT30**, **CBDMDA16jT30**, **CBDMDA22jT30** et **CBDMDA25jT30**) ont montré la production d'un même chitosane similaire au chitosane commercial.

La réduction des étapes d'isolation de chitosane pur à partir des déchets de crevettes en 02 étapes (déminéralisation suivie de désacétylation) est donc envisageable.

Pour ce qui concerne les échantillons préparés en 01 seule étape, seuls 03 d'entre eux (**CBDA7jT30**, **CBDA16jT30** et **CBDA25jT30**) ont montré que l'élimination de l'étape de déminéralisation est envisageable pour produire du chitosane pur. Probablement, une libération des minéraux s'est déroulée durant l'opération de lavage. La réalisation d'une seule étape : la désacétylation peut être envisageable pour produire du chitosane pur mais elle n'est pas contrôlable. L'introduction de l'étape de déminéralisation est donc nécessaire.

Au contraire, dans les essais où la température de désacétylation est de 20±3°C, les résultats des spectres FTIR obtenus sur les échantillons déminéralisés (**CB*DMDA7jT20**, **CB*DMDA10jT20**, **CB*DMDA22jT20** et **CB*DMDA35jT20**) ainsi que sur les échantillons non déminéralisés (**CB*DA7jT20**, **CB*DA10jT20**, **CB*DA22jT20** et **CB*DA35jT20**) montrent une forte présence de carbonates dans les produits. Par conséquent, il est recommandé d'utilisation des réactifs chimiques purs pour éviter la fixation des minéraux sur le chitosane purifié.

L'optimisation des conditions de désacétylation à 30°C après l'étape de déminéralisation (Benhabiles, 2012) a permis donc de produire des chitosanes solubles dans l'acide acétique dilué, de degré de désacétylation avoisinant les 80% et de poids moléculaires variables selon la durée de désacétylation. Plus le temps augmente, plus PM diminue pour atteindre une valeur, à partir de 22 jours, inférieure à celle du chitosane commercial (500 KDa).

Deux chitosanes ont été testés dans le conditionnement-déshydratation des boues urbaines épaissies, il s'agit de **CBDMDA7jT30** et **CBDA7jT30** car ils sont caractérisés par un poids moléculaire suffisamment élevé pour permettre une bonne floculation des boues. Le calcul de la siccité des boues additionnées de 2mg **CBDMDA7jT30**/g MS montre une amélioration maximale d'environ 50% par rapport à sans ajout de flocculant. Avec 0,5mg

Conclusion générale

CBDA7jT30/g MS et 1mg **ChitosCom**/g MS, l'amélioration n'est que de 18,8M et 36,7%, respectivement.

Ces premiers résultats sont très prometteurs, les carapaces de crevettes blanches pêchées sur le littoral d'Azzefoun sont valorisables dans l'obtention des chitosanes par voie douce.

En perspective, il est souhaité de poursuivre cette étude en s'intéressant à la production du chitosane par désacétylation à température ambiante de la carapace déminéralisée. Ensuite, tester les produits obtenus dans la déshydratation des boues épaissies de la STEP Est de la ville de Tizi-Ouzou.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Arbia Wassila , (2014).** Etude de l'optimisation de la récupération de la chitine par fermentation de déchets marins, Thèse de doctorat à l'ENP.
- Amorce, (2012).** Boues de Station d'Épuration Techniques de traitement, Valorisation et Elimination. Série Technique DT 51.
- Amec, (2003)** .Earth and Environmental Limited, Gestion des déchets des usines de transformation des produits de la mer de l'Atlantique, Rapport final, Darmouth, NE.
- Austin P.R. (1984)** .Chitin solution and purification of chitin .Method Enzymol .163, 403-407
- Benhabiles, (2013).**Valorisation des biomasses marines : carapace de crevette et rejet solide de poissonnerie
- Baudez J. C. (2001).** Rhéologie et physico-chimie des boues résiduares pâteuses pour l'étude du stockage et de l'épandage. Sciences de l'Environnement. Paris, Ecole Nationale du Génie Rural, des Eaux et des Forêts: 235.
- Blackwell J, (1973).** Chitin in: Biopolymers. Walton AG Blackwell J. Eds. New York: Academic press 474.
- Bratby J. (2007).** Coagulation and flocculation in water and wastewater treatment. 2nd ed. IWA Publishing.
- Brugnerotto J, Lizardi J, Goycoolea F M, Argu W, Desbrières J, et Rianudo M, (2001).** An affrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization.Polymer. 42. 3569-3580.
- Chih Chao Wu, Jerry J. Wu, (2003),** Ruey Yi Huang. Effect of Flocc Stength on Sludge Dewatering by Vacuum Filtration. Colloids and surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects (221): 141-147.
- Collomb V, Mayor M, (2007).** Les crustacés : un luxe ou une nécessité ; Haute école de santé Genève : Filière Diététique ; publication ; Genève.
- Crini G, Guibal E, Morcellet M, Torri G, Badot P, (2009).** Chitine et chitosane ; Préparation, propriétés et principales applications ; In Chitine et chitosane du biopolymère à l'application ; Besançon: Presses universitaires de Franche-Comté ; (pp. 19-54).
- Degremont (2005).** Mémento technique de l'eau : Tome 2 », Lavoisier, SAS – Lexique technique de l'eau, dixième édition, Paris, France.
- Dgrne, (2001).** Production annuelle des boues de stations d'épuration urbaines ou mixtes, [En ligne]. <http://mrw.wallonie.be/dgrne/data/boues/index.htm>.
- Einbu A, Varum KM, 2007.** Depolymerization and de-N-acetylation of chitin oligomers in hydrochloric acid. *Biomacromolecules*, 8(1):309-314

Références bibliographiques

- Emilian Koller. (2004).** Traitement des Pollutions Industrielles: Eau. Air. Dechets. Sols. Boues. Ed: Dunod.
- FAO, 2008.** SOFIA - The state of world fisheries and aquaculture, In. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations: 196
- FAO, 2009.** The state of world fisheries and aquaculture 2008.in:F.F.a.A.Département (Ed).Rome.
- FAO, 2010.** Production des pénéides - Répartition de la production aquacole mondiale, [<http://aquaculture.ifremer.fr/Statistiques-mondiales/Stats-crustaces/Production-des-peneides>]
- Heux L, Brugnerotto J, Desbrieres J, Versali M F, et Rinaudo M, (2000).** Solid state NMR for determination of degree of acetylation of chitin and chitosan. *Biomacromol*, 1,746-751.
- Islam M, Khan S, and Tanaka M. (2004).**Waste loading in shrimp and fish processing effluents: Potentia source of hazards to the coastal and near shore environments. *MarPollut Bull*; 49: 103-110.
- Kasaai MR, 2007.** Calculation of Mark-Houwink-Sakurada (MHS) equation viscometric constants for chitosan in any solvent-temperature system using experimental reported viscometric constants data. *Carbohydr Polym*, 68(3):477-488
- Kebreab A, (2004).**Ghebremichael and Bengt Hultman. Alum Sludge Dewatering Using Moringo Oleifera AS A Conditioner. *Water, air, and soil pollution* (158): 153-167.
- Keddou M, (2008).** Elaboration et caractérisation de membranes polymères à base de chitosane, thèse de magister ; Université de BOUMERDES.
- Kim S. K, Mendis E, (2006).** Bioactive compounds from marine processing products-A review; *Food Res Int*; 39: 383-393.
- Kim S. K. (2011).** Chitin, chitosan, oligosaccharides and their derivative: Biological activities and applications; CRC Press, Taylor & Francis Group.
- Kurita K. (2006).** Chitin and chitosan: Functional biopolymers from marine crustaceans. *Mar Biotechnol*; 8: 203-226.
- Le Roux. K, (2012).** Purification de la chitine par hydrolyse enzymatique à partir de coproduits de crevette *Penaeus vannamei*. Caractérisations des produits et optimisation du procédé ; thèse de doctorat ; université de nantes ; école doctorale : vegetal, environnement, nutrition, agroalimentaire, mer ; P (11-53).
- Léonard Angélique. (2002).** Étude du séchage convectif de boues de station d'épuration suivi de la texture par microtomographie à rayons x. Thèse Doctorat. Université de LIÈGE.
- MAPAQ, (2004),** <http://www.mapaq.gouv.qc.ca/Fr/Peche/Profil/pecheaquaculture/peche>.

Références bibliographiques

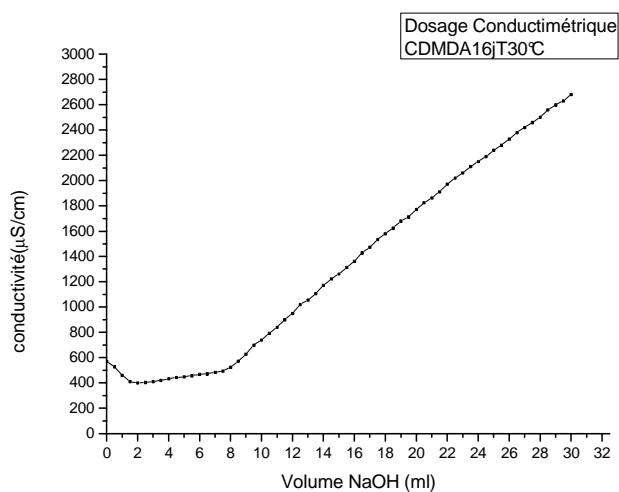
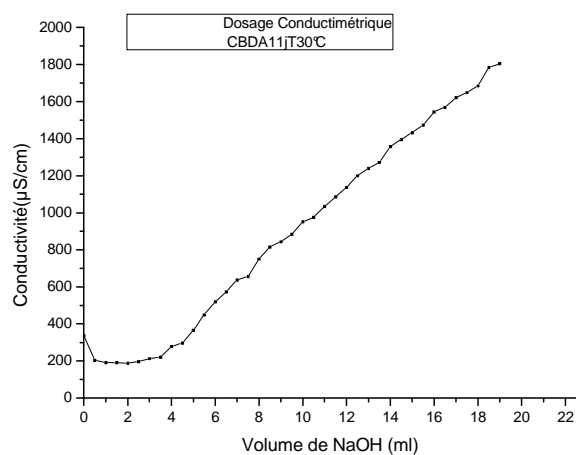
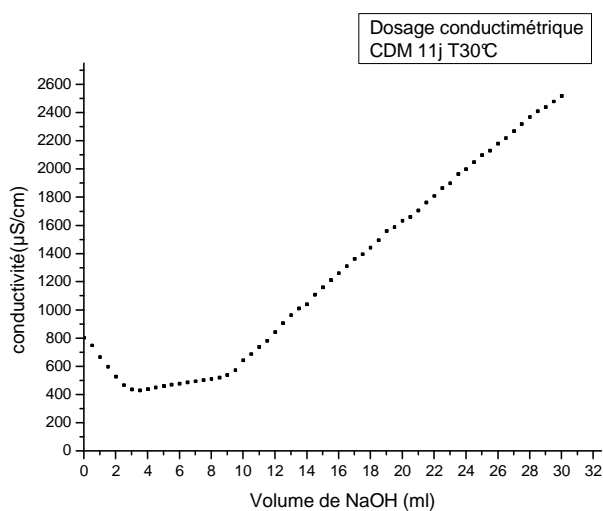
- Muzzarelli R A A, (1977).** Chitin. Oxford: Pergamon press.
- New , N, Furuike, T, Tamura H, (2011).**Chitin and Chitosan from Terrestrial Organisms, Part I The Sources and Production, of Chitin and Chitosan Derivatives, Chitin, Chitosan, Oligosaccharides and Their Derivatives, Biological Activities, and Applications.Taylor and Francis Group; LLC: 3-10.
- No H.K ,Meyers S.P., and Lee K.S (1989) .** Isolation and characterization of chitin from crawfish shell waste. J. of Agric. and Food chem. ., (37) 575-579.
- New , N, Furuike, T, Tamura H, (2011).**Chitin and Chitosan from Terrestrial Organisms, Part I The Sources and Production, of Chitin and Chitosan Derivatives, Chitin, Chitosan, Oligosaccharides and Their Derivatives, Biological Activities, and Applications.Taylor and Francis Group; LLC: 3-10.
- Onsoyen , E. et Skaugrud, O. (1990).** Metal Recovery Using Chitosan, Journal of Chemical Technolony et Biotechnolony, 49(2), 395-404.pharmaceutical science, 3(3), H.S3003-3371.
- Paramètres agronomiques. Vecteur environnement, 40 (4): 48-52.
- Penaud V, (2000).** Delgenès J. P. and Molleta R. Influence of thermochemical pretreatment conditions on solubilization and anaerobic biodegradability of microbial biomass. Environmental Technology, 21: 87-96.
- Perron V, et Hébert M. (2007).**Caractérisation des boues d'épuration municipales – Partie I :
- Rha C K, Rodriguez-Sanchez D, Kienzle-Sterzer C, (1984),** Novel applications of chitosan. In R.R .Colwell, E K. Pariser, A.J. Sinskey (Eds), biotechnology of marine polysaccharides
- Rinaudo M, Pavlov G, Desbrières J.(1999).** Influenced of acetic acid concentration on the solubilization of chitosan. Polym; 40: 7029-7032.
- Shahidi F. and Abuzaytoun R. (2005).** Chitin, chitosane, and co-products: chemistry, productions, application, and health effects.Adv. Food Nutr.Res.,49,93-135
- Tixie R, (2003),** Approche des propriétés rhéologiques de suspensions biologiques floculées, thèse doctorat Université de Limoges.
- Tolaimate A, Desbrieres J, Rhazi M, Alagui A, 2003.** Contribution to the preparation of chitins and chitosans with controlled physico-chemical properties. *Polymer*, 44(26):7939-7952
- Washington: Hemisphere P (284-311).
- Zemmouri H, (2012).** Valorisation d'un biomateriau, le chitosane, dans le traitement des eaux de surface et dans le conditionnement des boues. Thèse de Doctorat. Ecole Nationale Polytechnique d'Alger.

Annexes

Annexes

Annexe A

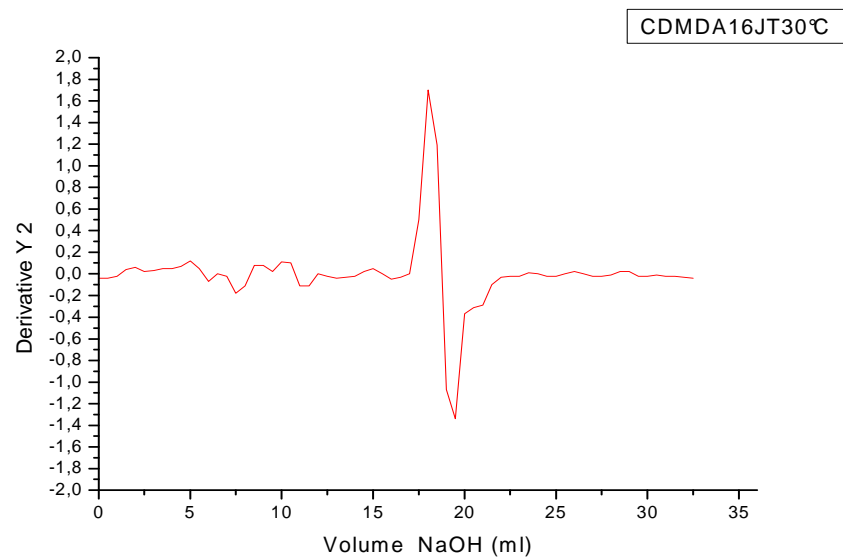
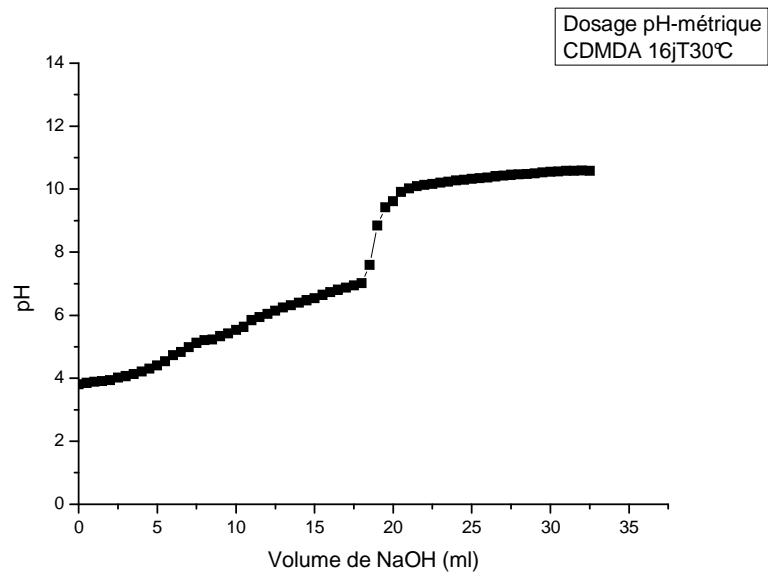
Détermination graphique de DDA par dosage conductimétrique



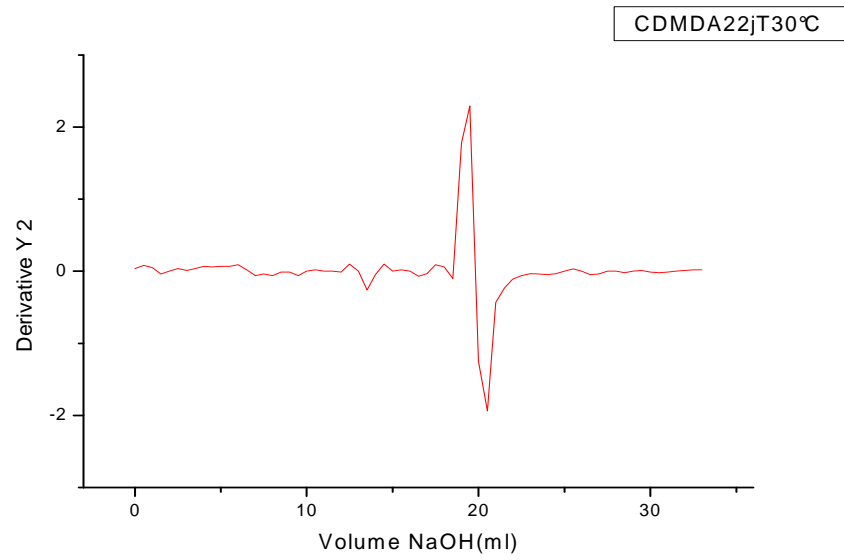
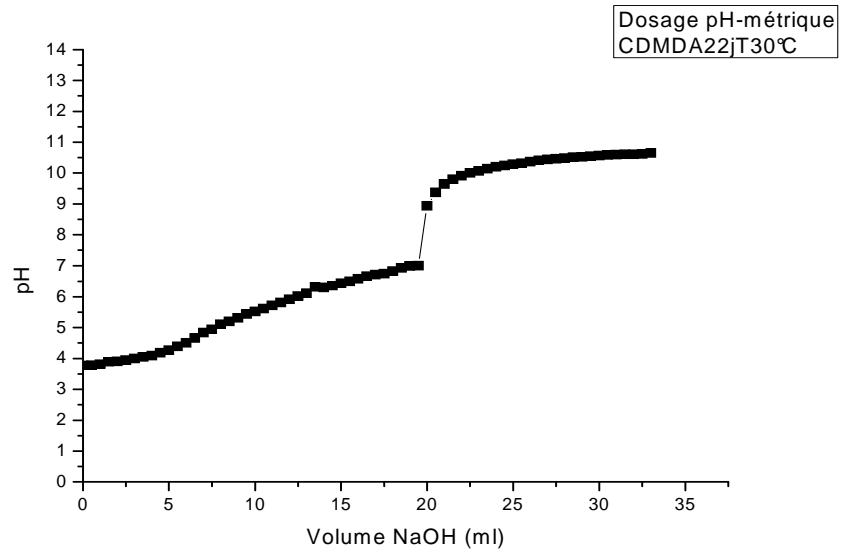
Annexes

Annexe B

Détermination graphique de DDA par dosage pH-métrique



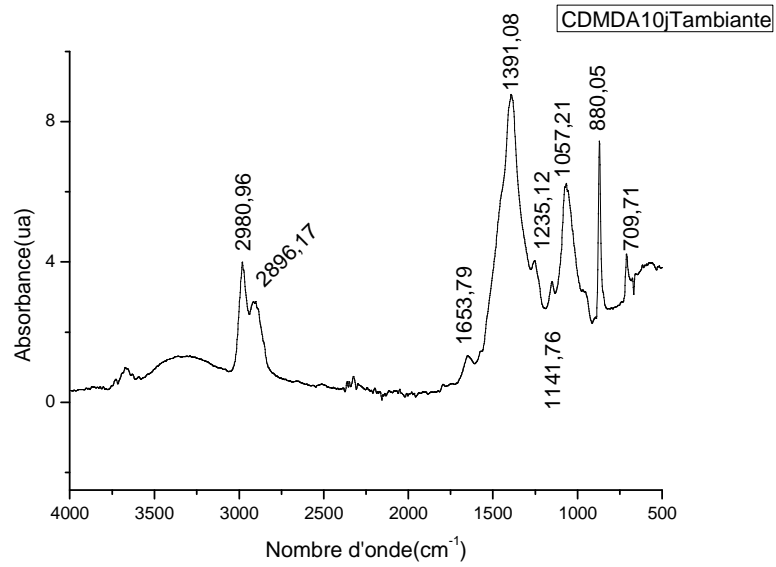
Annexes



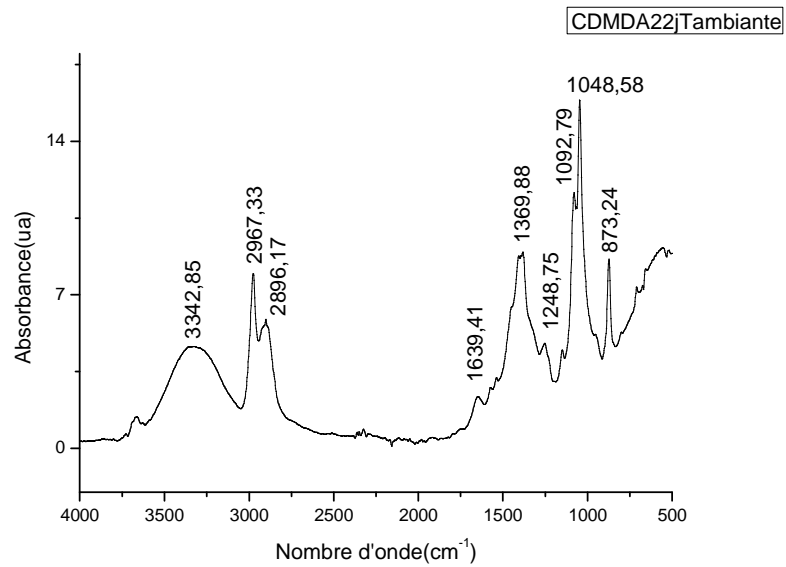
Annexes

Annexe C

Spectre FTIR de la carapace déminéralisée désacétylée 10j à T ambiante

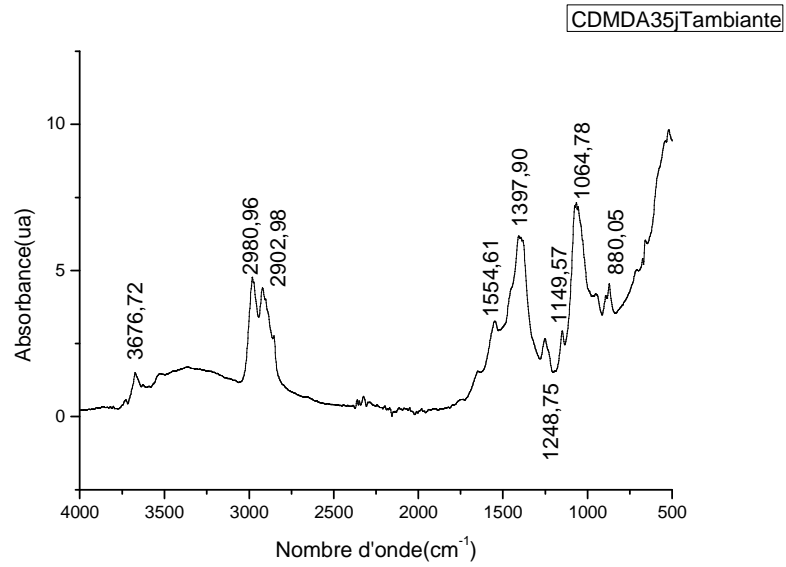


Spectre FTIR de la carapace déminéralisée désacétylée 22jours à T ambiante

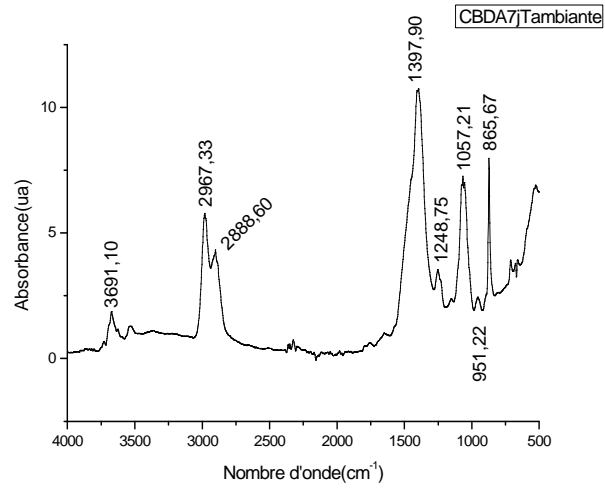


Spectre FTIR de la carapace déminéralisée désacétylée 35 jours à T ambiante

Annexes

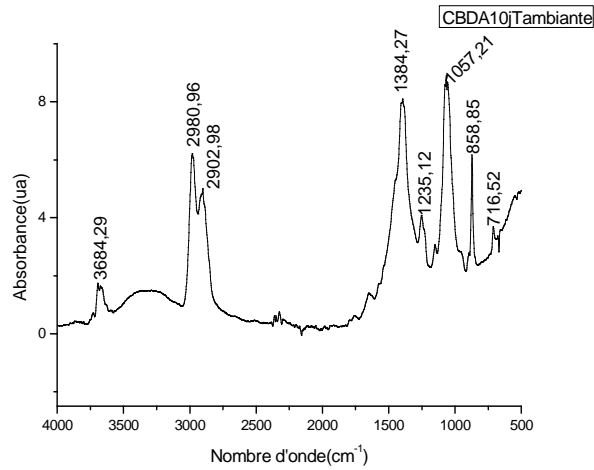


Spectre FTIR de la carapace brute déminéralisée désacétylée 35 jours à T ambiante

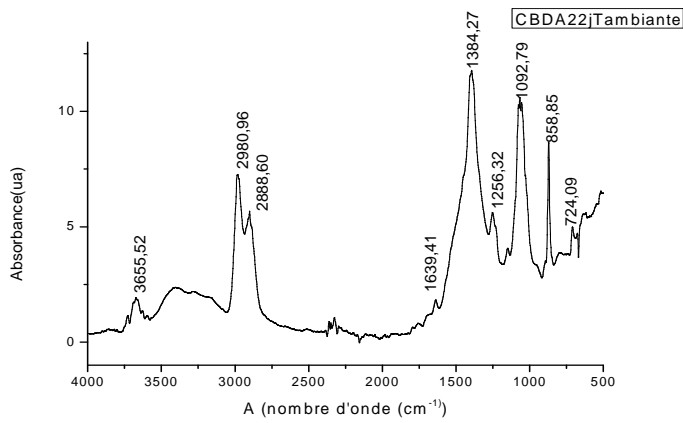


Annexes

Spectre FTIR de la carapace brute désacétylée 7 jours à T ambiante

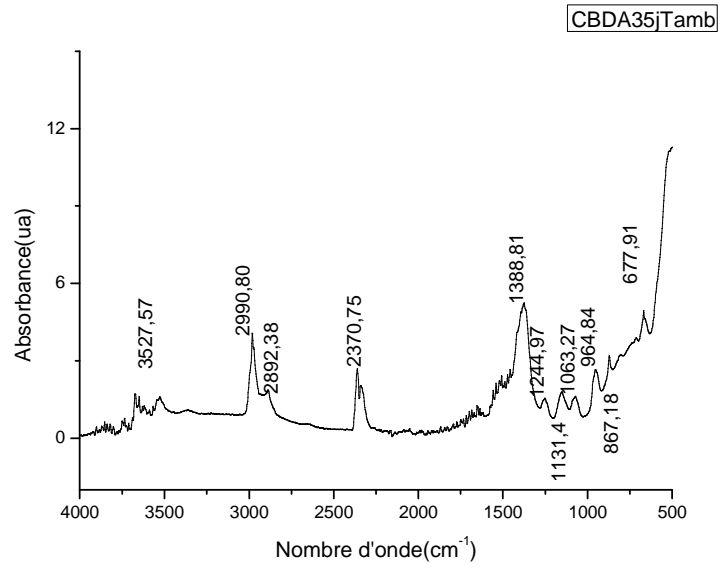


Spectre FTIR de la carapace brute désacétylée 10 jours à T ambiante



Annexes

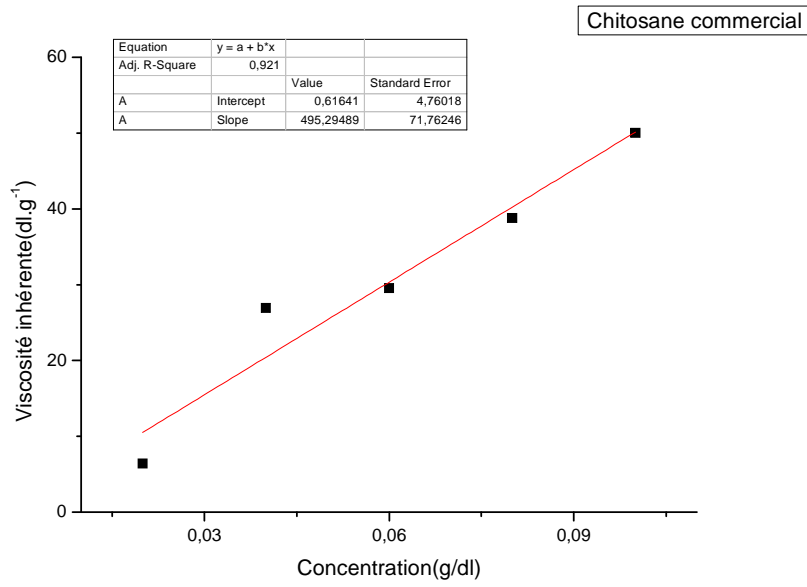
Spectre FTIR de la carapace brute désacétylée 35 jours à T ambiante



Annexes

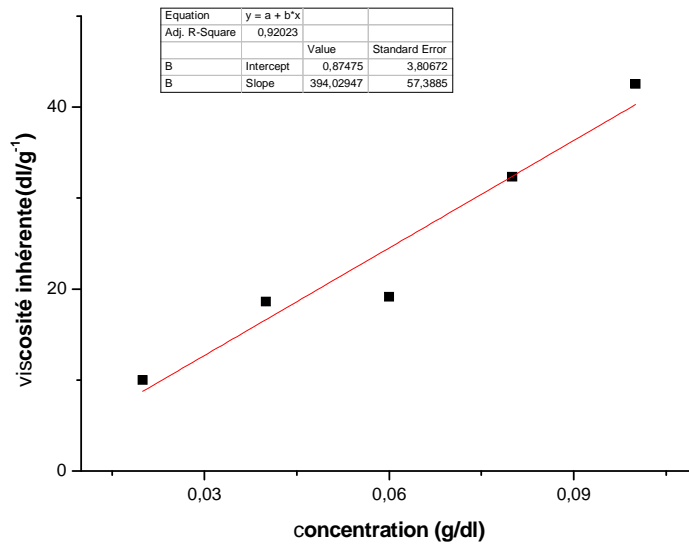
Annexe D

Calcul graphique de la viscosité intrinsèque des chitosanes

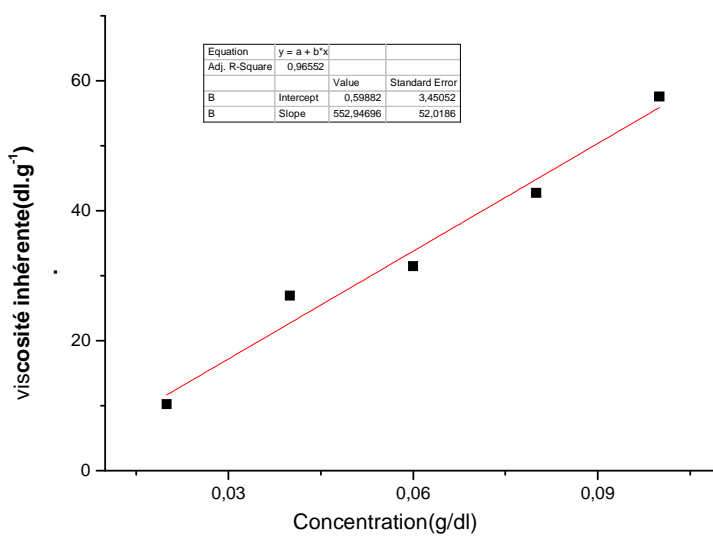


Annexes

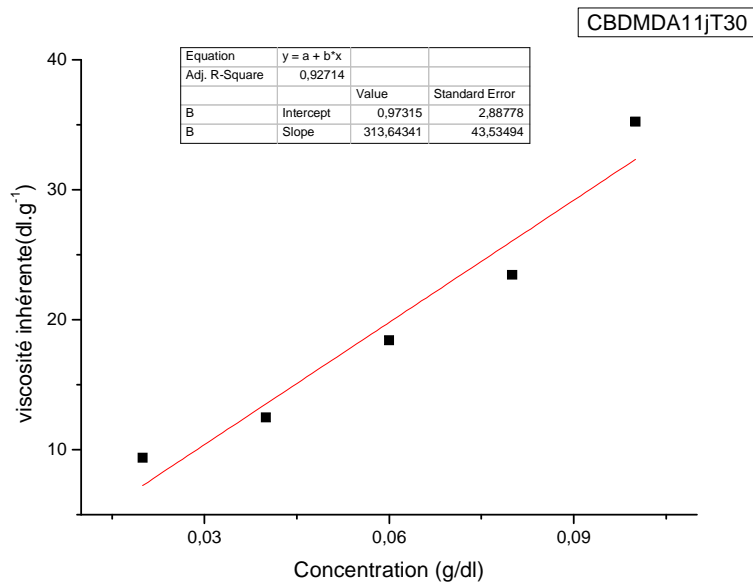
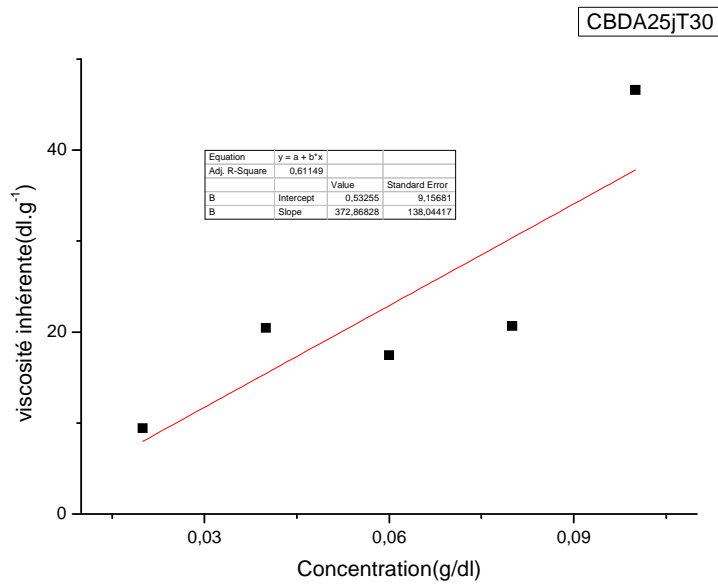
CBDA11jT30



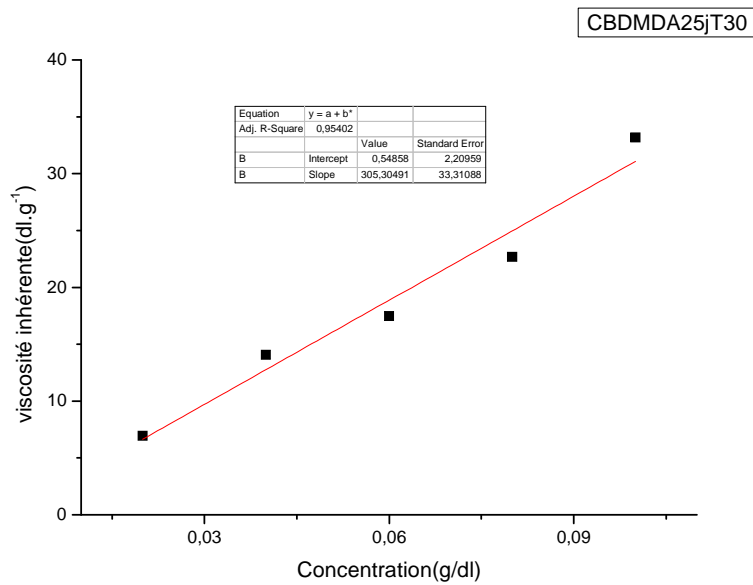
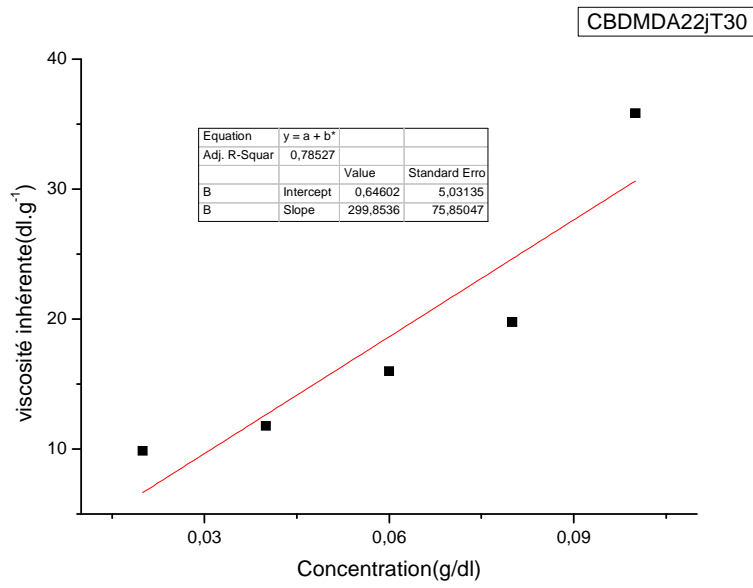
CBDA22jT30



Annexes

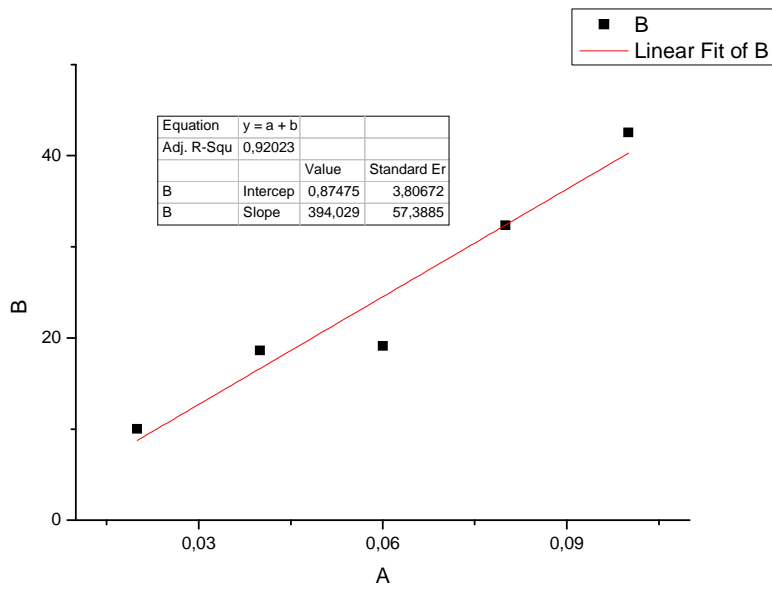


Annexes

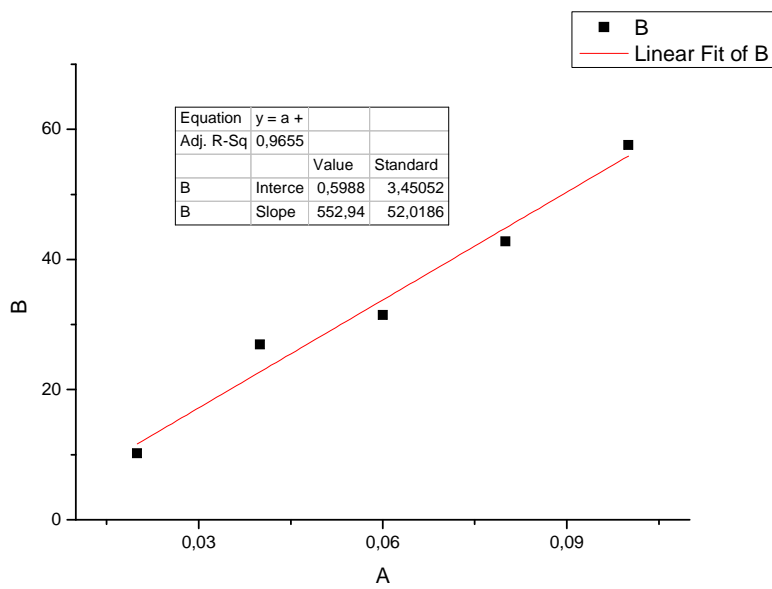


Annexes

CBDA11jT30



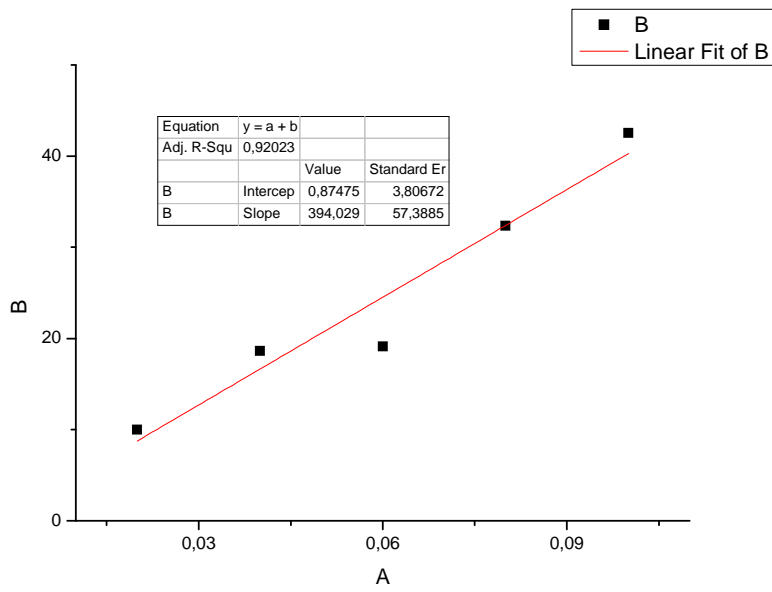
CBDA22jT30



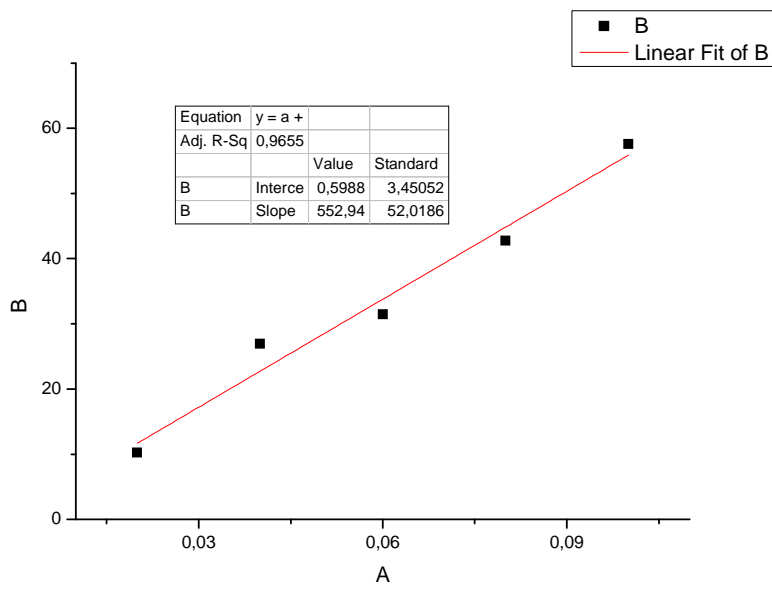
CBDA25jT30

Annexes

CBDA11jT30

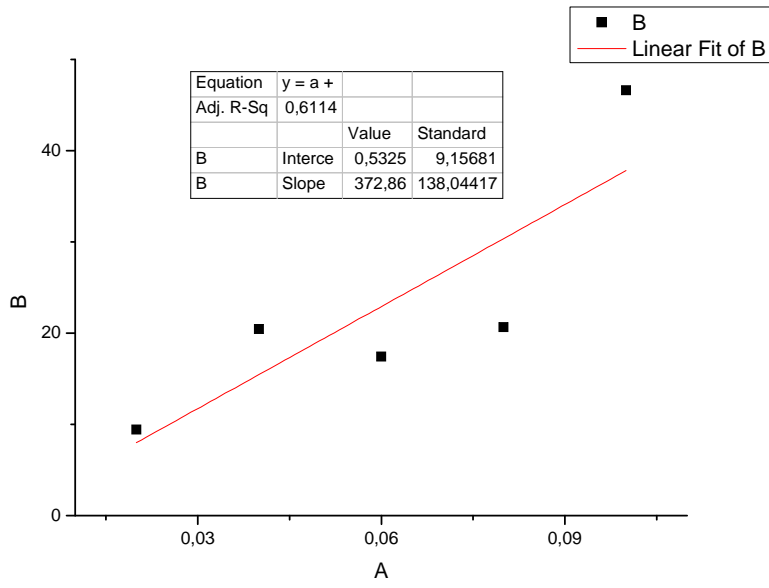


CBDA22jT30



CBDA25jT30

Annexes



Résumé- L'application des matériaux d'origine naturelle dans le traitement des effluents, par coagulation-floculation, notamment le chitosane, a suscité une attention considérable ces dernières années. La production de ce polysaccharide se fait conventionnellement par plusieurs étapes à savoir: la déminéralisation, la déprotéinisation, le blanchiment et la désacétylation. Par conséquent, le coût du biofloculant est élevé. Dans ce travail, la réduction de ces étapes en 01 seule (désacétylation) ou en 02 étapes (déminéralisation suivie de désacétylation) a été envisagée en vue de simplifier le procédé de fabrication du chitosane et Plusieurs chitosanes ont été préparés dans des conditions douces (températures avoisinante l'ambient). à partir de la carapace de crevettes *Parapenaeus longirotris*. Les résultats ont montré que des chitosanes présentent une amélioration de la siccité de la boue ainsi qu'une réduction de la turbidité (matières en suspension) du filtrat. De plus, la dose de chitosane a un effet considérable dans l'efficacité du conditionnement des boues à siccité de 3,49%. Cette étude préliminaire très prometteuse préconise l'utilisation du chitosane, comme agent biofloculant, dans le conditionnement des boues urbaines de la station d'épuration Est de la ville de Tizi-Ouzou.

Mots clés: chitosane, boues, coagulation-floculation, traitement des effluents, siccité

Abstract-In recent years, the application of natural materials in the effluent treatment by coagulation-flocculation namely chitosan has received considerable attention. The production of this polysaccharide is done by several stapes Viz. demineralization, deproteinization, bleaching and deacetylation. Therefore, the cost of biofloculant is high. In this work, the reduction of these steps in one step "deacetylation" or two steps "demineralization followed by deacetylation" was considered in order to simplify the chitosan manufacturing process. Several chitosan were prepared in appropriate conditions (room temperature) , from the shell of shrimp *Parapenaeuslongirotris*. The results showed that some prepared chitosans have improved sludge dryness and decrease of the turbidity (suspended matters) of the filtrate. In addition, the dose of chitosan has a significant impact on the sludge dryness efficiency of about 3.49%. This preliminary study recommends the use of chitosan as biofloculant agent in the urban sludge treatment of the East wastewater treatment plant of the wilaya of Tizi-Ouzou.

Keywords: chitosan, sludge, coagulation-flocculation, effluent treatment, dryness