

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI OUZOU



Faculté des Sciences
Département de CHIMIE



MEMOIRE DE MASTER

Spécialité : Chimie

Option : Chimie de l'environnement



Réalisé par:

M^{me} AMROUN DYHIA

M^{elle} TAHAROUNT KAHINA



Production et utilisation des chitosanes dans les procédés de coagulation-floculation.

Membres du jury:

Mr LOUNICI.H

Mr KADOUCHE.S

M^{me} DJABRI ADOUR.L

M^{me} DELLAH.S

M^{me} IRATNI.G

M^{me} ARBIA.W

professeur

M.A.A

professeur

M.C.A

M.A.A

Maître de Recherche

UMMTO président

UMMTO promoteur

UMMTO co-promotrice

UMMTO examinatrice

UMMTO examinatrice

ENP examinatrice

*Année Universitaire
2010 - 2011*

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à ma chère mère et mon cher père.

-À mon cher mari NASSIM.

-À ma belle mère et beau père.

-À mes sœurs: Lilia et Yasmine.

-À mon petit neveu ILYES-LEO

-À mes beaux frères: Younes et Tarik,

-À mon amie Fetta.



DYHIA

*R*emerciements

Au terme de ce modeste travail, nous tenons à exprimer nos reconnaissances et sincères gratitude à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Nos profonds remerciements s'adressent particulièrement à notre promoteur M^r KADOUCHE.S pour son aide et ses conseils et à notre co-promotrice M^{me} DJABRI ADOUR.L de nous avoir prodiguée tout au long de notre travail et pour sa disponibilité.

Nous tenons à remercier M^r LOUNICHI de nous avoir fait l'honneur de présider le jury et pour tout les efforts qu'il a fourni à notre égard.

Nos reconnaissances s'adressent à M^{me} DELLAH.S, M^{me} IRATNI.G et M^{me} ARBIA.W d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Kahina ET Dyhia

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS

DEDICACE

TABLE DES MATIERES

LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX

LISTE DES SYMBOLES

INTRODUCTION GENERALE1

CHAPITRE I: LA CHITINE ET LE CHITOSANE

I.1.Introduction.....3

I.2.Historique.....3

I.3. Les sources de la chitine et du chitosane4

I.4. Structures chimique.....6

I.5. Caractéristique de la chitine et du chitosane.....7

I.5.1. Cristallinités.....7

I.5.2. Degrés désacétylation(DDA).....8

I.5.3. Solubilités8

I.5.4.Viscosité10

I.5.5.Masse moléculaire10

I.6. Les différentes propriétés du chitosane.....11

I.6.1. Propriétés physico-chimique11

I.6.2. Propriétés polyélectrolytes du chitosane en milieu acide11

I.6.3. Propriétés biologiques11

I.7. Applications de la chitine et du chitosane.....11

I.7.1.Domaine biomédical.....12

I.7.2. Application pharmaceutique.....12

I.7.3.Cosmétique12

I.7.4.Agriculture.....12

I.7.5.Agroalimentaire13

I.7.6.Domaine de traitement des eaux.....13

CHAPITRE II. MODES DE PREPARATION DE LA CHITINE ET DU CHITOSANE

II.1.Introduction15

II.2.Préparation de la chitine par voie chimique16

II.3.Préparation de la chitine par voie biologique	17
II.4.Transformation de la chitine en chitosane	18
II.5 Méthodes de caractérisation du chitosane	20

CHAPITRE III: APPLICATION DU CHITOSANE DANS LES PROCÉDES DE COAGULATION-FLOCCULATION

III.1. Introduction:	21
III.2. Principe de la coagulation-floculation:	21
III.3. Types de coagulants et de flocculants:.....	22
III.3.1. Les coagulants et les flocculants inorganique:	22
III.3.1.1. Les coagulants et flocculants de type sels métalliques:.....	22
III.3.1.2. Les coagulants de type sels métalliques polymérisés:	24
III.3.1.3. Les flocculants de type polymères (polyélectrolytes) synthétiques:	24
III.3.2. Les coagulants et flocculants d'origine naturelle:	25
III.4. Le processus de coagulation et de floculation:	27
III.4.1.Compression de la double couche (coagulation électrostatique):	27
III.4.2. Adsorption et neutralisation des charges:	28
III.4.3. Emprisonnement des particules dans un précipité:.....	28
III.4.4. Adsorption et pontage:	28
III.5 Les avantages et inconvénients de l'utilisation du chitosane:	29

CHAPITRE VI: MATÉRIELS, PRODUITS ET MÉTHODES EXPÉRIMENTALES

IV.1 Introduction.....	31
IV.2. Matériel, produits et méthodes expérimentales.....	32
IV.2.1.Matériel et produits	32
IV.2.2. Méthodes expérimentales.....	33
IV.2.2.1.Désacétylation chimique des chitines et préparation des chitosanes	33
IV.2.2.2. Caractérisation des chitosanes	33
IV.2.2.2.1. Test de solubilité des chitines désacétylées	33
IV.2.2.2.2. Déterminations du degré de désacétylation (DDA).....	34
IV.2.2.2.2.3. Caractérisation par FTIR.....	34
IV.2.2.2.2.4. Caractérisation par dosage conductimétrique	34
IV.2.2.2.2.5. Caractérisation par dosage pH-métrie	35
IV.2.2.2.3. Détermination de la masse moléculaire par viscosimétrie	35
IV.2.2.3. Test de coagulation-floculation.....	37
IV.2.2.3.1. Mesure de la turbidité.....	38

IV.2.2.3.2. Dosage de la DCO.....	38
CHAPITRE V: RESULTATS ET DISCUSSION	
V.1. Caractérisation des chitosanes.....	39
V.1.1. Test de solubilisation.....	39
V.1.2. Détermination du DDA des chitosanes.....	39
V.1.2.1. Caractérisation des chitines et des chitosanes par spectroscopie infrarouge (FTIR).....	39
V.1.2.2. Détermination du degré de désacétylation des chitosanes A et B par dosage conductimétrique.....	42
V.1.2.3. Détermination du degré de désacétylation des chitosanes par dosage pH-métrique.....	44
V.1.3. Détermination de la masse moléculaire des chitosanes par viscosimétrie	
V.2. Test de coagulation-floculation.....	49
V.2.1. Caractérisation de l'effluent d'eau usée avant traitement	49
V.2.2. Etude du taux d'abattement de la turbidité.....	50
V.2.3. Caractérisation de l'effluent X d'eau usée après le traitement de coagulation-floculation.....	52
V.2.4. Etude du taux d'abattement de la DCO.....	53
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	55
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNEXES	

LISTE DES FIGURES

Figure I.1: Structure chimique de la chitine	6
Figure I.2: Structure chimique du chitosane.	6
Figure I.3: Mécanisme proposé pour la solubilisation de la chitine.....	9
Figure II.1: Schéma présentant l'extraction de la chitine par voies chimique et biologique .16	
Figure II.2: Réaction de désacétylation de la chitine.	19
Figure III.1: Principe de la floculation par pontage	29
Figure VI.1: Réaction de désacétylation de la chitine.....	31
Figure V.1: Spectre FTIR de la chitine A et du chitosane A.....	40
Figure V.2: Spectre FTIR de la chitine B et du chitosane B.	40
Figure V.3: Dosage conductimétrique basique du chitosane A.	43
Figure V.4: Dosage conductimétrique basique du chitosane B.....	44
Figure V.5 : Dosage pH-métrique du chitosane A	45
Figure V.6: Dérivée seconde du dosage pH-métrique du chitosane A	45
Figure V.7 : Dosage pH-métrique du chitosane B	46
Figure V.8 : Dérivée seconde $\partial^2 \text{pH} / \partial v^2$ du dosage pH-métrique du chitosane B.....	46
Figure V.9 : Détermination de la viscosité intrinsèque du chitosane A	48
Figure V.10: Détermination de la viscosité intrinsèque du chitosane B.	48
Figure V.11: La cinétique de la turbidité résiduaire à différentes concentrations en chitosane A.	50
Figure V.12: La cinétique de la turbidité résiduaire à différentes concentrations en chitosane B.	51

Figure V 13: Variation du taux d'abattement de la turbidité en fonction de la teneur en chitosane A et B.	52
Figure V.14: Variation du taux d'abattement de la DCO en fonction de la teneur en chitosane A et B.	53

LISTE DES TABLEAUX.

Tableau 1.1: Les principales sources de chitine.	5
Tableau I.2: Les caractéristiques résultantes de la cristallinité de la chitine et du chitosane..	7
Tableau V.1: Teste de solubilité du chitosane A et chitosane B.	39
Tableau V.2: Principales bandes des spectres FTIR des chitines et des chitosanes.....	41
Tableau V.3 : Pourcentages de DDA obtenus par spectroscopie Infrarouge.	42
Tableau V.4: Pourcentage du DDA obtenu par dosage conductimétrique.....	44
Tableau V.5: Pourcentages du DDA obtenus par méthode pH-métrique.	47
Tableau V.7: Résultats de la caractérisation de l'échantillon d'effluent avant le traitement de coagulation-floculation.....	49
Tableau V.8: valeurs du pH obtenu à la fin de la décantation pour différentes teneurs en coagulant (Chitosane A).....	52
Tableau V.9: Valeurs du pH à la fin de la décantation pour différentes teneurs en coagulant (Chitosane B).....	53

Liste des symboles et abréviations

a : constante de l'équation de Mark-Houwink-Sakurada.

K : constante de l'équation de Mark-Houwink-Sakurada.

DA: degré d'acétylation.

Da: dalton.

DDA : degré d'acétylation.

DMAc : N, N-diméthylacétamide.

Ka: constante d'acidité.

KDa : kilo dalton.

MDa: méga dalton.

LiCl: chlorure de lithium.

RMN: résonance magnétique nucléaire.

DRX: Diffraction de rayon X.

UV: ultra-violet.

$[\eta]$: viscosité intrinsèque de la solution.

η : viscosité de la solution

η_0 : viscosité de solvant pur

η_{sp} : Viscosité spécifique.

η_{inh} : Viscosité inhérente.

β : sucre dans sa forme cyclique dont le groupement hydroxyle attaché au carbone anomérique est en position équatoriale.

FTIR : Spectroscopie infrarouge à transformée de fourrier.

kDa : Kilo Dalton.

DDA : Degré de désacétylation.

M : Masse moléculaire.

ONA : Office Nationale d'Assainissement.

pH : potentiel d'hydrogène.

MES : Matière en suspension.

DCO : Demande chimique en oxygène.

t : temps.

C : concentration.

K' : constante de Huggins.

K'' : constante de Kraerner.

NTU : Nephelometric Turbidity Unit.

tmp : tour par minute.

A : Absorbance.

R : coefficient de corrélation.

V : Volume.

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.

La pollution de l'eau est due, principalement, à la présence de matières en suspension. Le procédé de dépollution, le plus envisagé, est la coagulation-floculation dont les matériaux fréquemment utilisés sont d'origine minérale: sels métalliques et polymères synthétiques. L'inconvénient majeur de ces coagulants-floculants réside dans la contamination de l'eau par les métaux et principalement les métaux toxiques. Des coagulants et floculants alternatifs comme les biopolymères ont été testés et dont le plus prometteur est le chitosane, grâce à ces propriétés: chélatantes, complexantes, excellent floculant (polyélectrolyte), non-toxique et biodégradable. Ce chitosane est produit par désacétylation de la chitine issue de la valorisation des déchets de crustacés.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à la production de chitosanes par désacétylation alcaline à température ambiante, à partir de deux chitines d'origines différentes et purifiées par deux méthodes différentes. Une évaluation de leur caractère coagulant-floculant a été effectuée grâce à des essais de coagulation-floculation à partir d'une eau usée prélevée de la station d'épuration l'ONA de Tizi-Ouzou

Ce mémoire est structuré en deux parties:

1. Une partie théorique organisée en trois chapitres
 - Etude de la chitine et du chitosane: Sources, structures chimiques, caractéristiques et applications (Chapitre I).
 - Modes de préparation de la chitine (chimique et biologique) et du chitosane (désacétylation chimique). Méthodes de caractérisation du chitosane (Chapitre II).
 - Application des biopolymères dans les procédés de coagulation-floculation: principe, types de coagulant-floculant et processus de coagulation-floculation (Chapitre III).
2. Une partie expérimentale qui comporte les étapes suivantes:
 - La première étape de notre travail expérimental a consisté à la synthèse des chitosanes par désacétylation alcaline à température ambiante à partir des chitines (chitine A)

Introduction générale

commerciale chimique purifiée chimiquement et chitine B extraite des carapaces des crevettes et purifiée par voie biologique)

- La deuxième étape comporte: un test de solubilité des chitosanes préparés; la détermination des degrés de désacétylation par trois méthodes: spectroscopie Infrarouge FTIR, dosage conductimétrique et dosage pH-métrique et la détermination des masses moléculaires par viscosité.
- Dans la troisième étape, nous avons testé le comportement biofloculant des chitosanes préparés et caractérisés dans le traitement d'une eau usée urbaine. Le suivi de la cinétique de la turbidité de la suspension à différentes doses a été effectué ainsi que la mesure de la DCO et du pH de l'effluent avant et après l'ajout du chitosane A et B.

I.1.Introduction:

Les polysaccharides sont des biopolymères d'origine naturelle jouant un rôle structural chez les plantes et les animaux. Parmi ces polysaccharides, la chitine et son principal dérivé le chitosane sont ceux qui suscitent le plus d'intérêt chez l'homme. Après la cellulose, c'est le polysaccharide le plus abondant (**Muzzareli, 1977;1986**). La chitine et le chitosane sont, en effet, extrait commercialement des carapaces des crustacés telles que le crabe et la crevette, cette valorisation des <<déchets>> contribue a la sauvegarde de l'environnement dans des régions où les crustacés constituent l'approvisionnement principal de divers conservation. En effet, il faut noter que les déchets des industries de la pêche, s'ils ne sont pas utilisés, sont rejetés en mer et posent d'importantes problèmes de pollution car les carapaces des crustacés sont biodégradables très lentement. Il est donc important de valoriser ces <<co-produits>>.

I.2.Historique:

En 1811, le professeur Henri Braconnot, à isoler une substance fibreuse d'un certain type de champignon (**Kedou, 2008**). Il appela cette substance <<fungine>>, en 1823 Odier a extrait un composé similaire, à partir de la cuticule de l'exosquelette d'un insecte (**Kurita, 1979**). En traitant une cuticule de coléoptère par de la potasse a chaud, il a obtenu un produit insoluble qu'il nomma chitine (mot grec qui signifie tunique ou enveloppe). Odier fut intrigué par le fait que les insectes et les champignons possédaient le même composant structural. En 1859, Rouget remarqua que la chitine modifiée, préparée à partir de la chitine traitée par de la potasse à chaud, était soluble dans des solutions aqueuses et les acides dilués .Cette propriété a alors été utilisée pour distinguer cette nouvelle substance de la chitine. Le nom chitosane a été introduit pour la première fois en 1894 par Hoppe –Seyler (**Vetter 2007**) mais la découverte du chitosane est néanmoins attribuée à Rouget (**Sannan et Kurita, 1976; Atkins, 1985**).

Bien que la chitine et le chitosane soient connus depuis le 18^{ème} siècle, les recherches ont réellement commencé à partir des années 1930. A cet effet, on peut signaler les 9 brevets pris en 1936 par G.W. Rigby, employé de la société du pont de Nemours et Co (**Tolaimate, 2003**). Cependant, les recherches ont véritablement démarré après la seconde guerre mondiale dès 1950 (**Sannan et Kurita, 1976; Atkins, 1985;Tolaimate, 2003**). Différentes raisons peuvent expliquer ces différents <<trous>> historiques (**Sannan et Kurita, 1976; Rudall, 1969**). En effet, les problèmes majeurs rencontrés dans la chimie de la chitine résident non seulement

dans sa préparation et son mode d'extraction, mais également dans sa mise en œuvre liée à la difficulté de mise en solution du fait de son insolubilité (**Mather et Narang, 1990; Weiss, 2003**). A partir des années 1970, la chitine et le chitosane ont commencé à susciter un réel intérêt en raison notamment des grandes quantités de déchets que produisaient les conserveries américaines et japonaises, ont alors cherché à valoriser ces déchets et ont lancé les premiers programmes des recherches.

De nombreux brevets sur les procédés d'obtention de modification et d'utilisation de la chitine et du chitosane ont été déposés à cette époque. Le premier congrès international a eu lieu en 1977 à Boston USA. Actuellement, ces biopolymères font l'objet de nombreuses recherches, tant sur le plan fondamental que sur le plan appliqué, et intéressent de nombreux domaines.

I.3. Les sources de la chitine et du chitosane:

La chitine est produite par les insectes (blattes, coléoptère, fourmis), les arachnides (scorpions, araignées), les animaux marins (crabes, crevettes, homards, langoustines, calamars) et les champignons (**Rudall, 1969; Sannan et Kurita, 1976; Atkins ,1985; Muzzareli, 1986; Hudson et Jekins, 2003**).

Dans le règne animal, la chitine est un élément de soutien des téguments de certains invertébrés (insectes, crustacés, mollusques, nématodes). On la retrouve en particulier dans la composition de leur cuticule, et à un degré moindre au niveau de la paroi intestinale, du tube digestif, des trachées, des tendons musculaires et du squelette interne. Cette cuticule contient également des protéines, des lipides et du carbonate de calcium. En réalité, les structures chitineuses ne sont jamais constituées de chitine seule; elle est généralement complexée a des protéines sous la forme de glycoprotéines, ce qui confère des propriétés de rigidité (ou de souplesse) aux cuticules. La chitine est également un constituant majeur des endosquelettes de céphalopode comme les sèches et les calamars. Au niveau des autres règnes biologiques, elle est signalée dans les parois cellulaires des champignons et de certaines algues chlorophycées. La chitine est également présente dans certaines levures et bactéries. Le tableau. I.1 donne les principales sources de chitine (**Atkins, 1985; Mather, 1990; No et Meyers, 1997; Struszczyk, 2002; Viney et Harish, 2002; Weiss, 2003**).

Tableau 1.1: Les principales sources de chitine d'après MATHER et NARANG [1990]

Sources	Sites de présence	Teneur en chitine(en %) ^a
Arthropodes		2-72
• Crustacés	Exosquelette	
• Insectes	cuticule	
• Arachnides		
Mollusques	coquille	6-40
• Seiches	dents	
• Pieuvres/calmars	plumes	
Pogonophores	tubes	33
Cnidaires	capsule d'œufs	3-30
	membranes	0,2-38
Annélides		
• Sangsue	soies	
• Lombric		
Brachiopodes	cuticules	4-29
	coquilles	
Champignons		2,9-20,1
• Levures		
• Ascomycètes	Paroi cellulaire	
• Pénicillium	Tige	
• Blastocladiacés	spore	
• Chytridiacés		
Algues	paroi cellulaire	faible
lichen		

a est rapporté à la masse sèche.

Le meilleur rendement d'extraction de la chitine est actuellement observé chez les crustacés qui constituent donc la principale source au niveau industriel. Cependant, la proportion de la chitine dans ces déchets peut varier de 15 à 30 % en masse sèche pour certaines carcasses de crabes à 30 à 40% pour les crevettes grises (**Muzzareli, 1986; Mather, 1990**). Décalcifiées, les cuticules sont constituées de 55 à 85 % de chitine.

Le chitosane est une substance très peu répandue dans la nature (**Hudson, Jekins , 2003; Sandford, 2003; Weiss, 2003**). Elle n'est signalée que dans l'exosquelette de certains insectes (comme par exemple la paroi abdominale des reines de termites) et dans les parois cellulaires d'une classe particulière de champignons (les égomycètes), de bactéries et de

I.5.1. Cristallinités:

La cristallinité est un paramètre important car elle contrôle un certain nombre de propriétés (l'accessibilité des sites internes dans les chaînes macromoléculaires, les propriétés de dégonflement dans l'eau et les propriétés diffusionnelles) (Muzzareli, 1977;1986), La cristallinité est en général, déterminée par des mesures de diffraction de rayons X (Rudall, 1969;Sannan et Kurita, 1976). La chitine est présente sous forme cristalline ou sous forme de complexe chitinoprotéique (Rudall, 1969; Sannan et Kurita, 1976; Atkins, 1985), les chaînes du polymère peuvent être agencées de différentes manières suivent l'origine du matériau) (Muzzareli ,1977; 1986). À l'état solide, les chaînes de chitine se présentent sous forme d'hélice avec une unité de répétition d'environ 1.03nm, chaque unité est constituée de deux résidus (Weiss, 2003).

En conséquence des divers arrangements des macromolécules, trois formes distinctes ont été mises en évidence (Rudall, 1969; Sannan et Kurita, 1976; Atkins, 1985).

Tableau. I.2: Les caractéristiques résultantes de la cristallinité de la chitine et du chitosane (Grégorio et al., 2007).

Produit	arrangement	maille	ponts hydrogène	caractéristique
Chitine α	antiparallèle	orthorhombique	nombreux	rigidité
Chitine β	parallèle	monoclinique	peu nombreux	solubilité
				Affinité pour les solvants
				Hydrophile
Chitine γ	2parallèle pour1 antiparallèle			
Chitosane I		orthorhombique		plus désordonné
Chitosane II		orthorhombique		moins désordonné

La chitine α qui est la plus stable et la plus abondante: elle existe principalement dans les exosquelettes des crevettes et des crabes, et la membrane de certains champignons; ses chaînes macromoléculaires s'arrangent de manière antiparallèle et cristallisent en absence d'eau dans un système orthorhombique contenant deux macromolécule; les liaisons hydrogène confèrent au polymère une grande stabilité vis-vis des solvants courants et des solutions aqueuses.

La forme β que l'on trouve dans la plume de calamar et l'endosquelette de sèche: les chaînes de macromolécule s'arrangent de manière parallèle dans une maille monoclinique. La

β -chitine a une affinité pour l'eau et les solvants organiques (les liaisons intermoléculaires sont de faible énergie).

La forme γ qui a été identifiée dans la cuticule d'un brachiopode inarticulé et les cocons des insectes, sa structure serait constituée par alternance de deux chaînes parallèles (c'est un mélange des deux formes précédentes avec des caractéristiques intermédiaire) (**Muzzareli, 1986**).

Le chitosane est également une substance semi-cristalline. Il cristallise dans le système orthorhombique et deux types de produits sont connus: le chitosane I (faible DDA, sous forme de sel) est plus désordonné que le chitosane II (forte DDA forme amine libre) (**Muzzareli, 1986; Hudson, 2003; Sandford, 2003**).

I.6.2.Degré de désacétylation(DDA).

En pratique, le chitosane et la chitine sont considérés comme des copolymères de même structure chimique globale constitués d'unités N-acétyl-D-glucosamine et D-glucosamine, dont la répartition fixe le DDA. En réalité, la distinction entre ces deux biopolymères est fondée sur le taux de désacétylation.

Le degré de désacétylation (DDA) représente la proportion d'unités amine-D-glucosamine par rapport au nombre total d'unités glycosidiques. (**Zhang et al., 2005**). Le paramètre DDA est extrêmement important car il influence directement sur les chaînes macromoléculaires des polymères et leur comportement en solution (**Austin,1984; Rinaudo,1989; Aiba,1991; Anthonsen,1993; Rinaudo,Pavlov,1999; Yu,2001; Berth,2002; Hudson et Jekins,2003; Varum,2005**), à savoir:

- 1) la solubilité du chitosane;
- 2) la flexibilité des chaînes macromoléculaires;
- 3) la conformation du polymère;
- 4) et donc la viscosité des solutions.

I.5.3. Solubilités:

La chitine est une substance inerte, insoluble dans l'eau, et également dans la plupart des solvants, comme la cellulose, les acides concentrés la dégradent. Par chauffage, la chitine se décompose vers 250°C sans fondre. Elle est soluble dans un mélange diméthylacétamide /chlorure et de lithium.

La solubilité de la chitine dans DMAc /LiCl semble dépendre du degré d'acétylation. Plus le degré d'acétylation est élevé, plus le pourcentage de solubilité est élevé. Cela démontre l'importance du groupement N-acétyle dans le mécanisme de solubilisation. Selon Paner et

Beste, il y aurait formation de complexes cationiques faibles entre LiCl et DMAc. Ces complexes solubiliserait ensuite le « polyélectrolyte » formé par l'interaction des ions chlorures avec les groupements N-acétyl et hydroxyle de la chitine (figure.I.3) (**Paner, 1976**)? La structure exacte du complexe de solubilisation chitine-LiCl-DMAc n'est toutefois pas encore connue précisément.

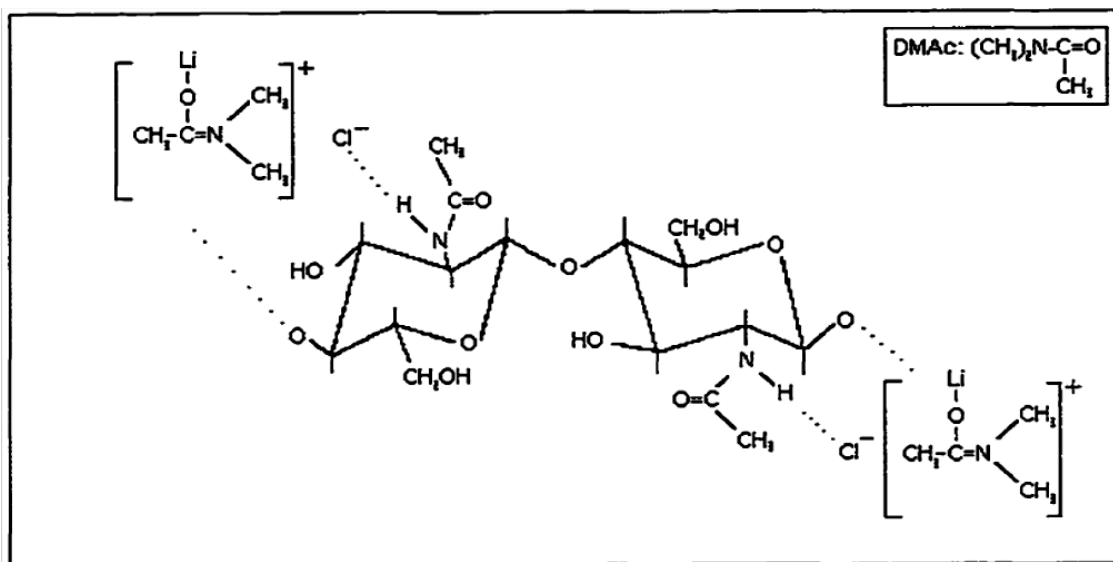
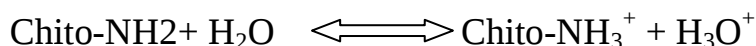


Figure I.3: Mécanisme proposé pour la solubilisation de la chitine [1976].

En revanche, sa désacétylation partielle en milieu basique permet d'obtenir le chitosane; à l'état solide, le chitosane montre une structure irrégulière semi-cristalline; lorsque celui-ci est de faible poids moléculaire et 100% désacétylé, sa structure est cristalline. Le chitosane sous forme $-NH_2$ est insoluble dans l'eau, dans les acides concentrés, les bases et les solvants organiques. Ce sont ses propriétés acido-basiques qui permettent une dissolution facile. En effet, il est soluble dans les acides dilués grâce à la protonation de ses groupes amines suivant l'équilibre:



Comme pour tous polyélectrolytes, le pK_a du chitosane dépend plus particulièrement du degré de neutralisation des groupes NH_3^+ . Le pK_a va également dépendre du DA. En effet, la densité de charges varie d'un DA à l'autre pour un même degré de neutralisation de groupements NH_3^+ . Toutefois, quelle que soit la valeur du DA (comprise entre 0 et 25 %), pour des masses moléculaires suffisamment élevées, la valeur limite du pK_a obtenue à un degré de neutralisation égal à 1, est $pK_0 = 6,5$, pK_0 étant le pK_a intrinsèque du chitosane. La solubilité du chitosane varie donc en fonction de la distribution et du pourcentage d'acétylation sur les chaînes (**Domard, 1987; Aiba, 1991; Rinaudo et al., 1999**).

I.5.4. Viscosité:

La viscosité du chitosane dépend du degré d'acétylation de ce polymère. Plus il est désacétylé, plus il y a de groupements amines libres et plus le chitosane est soluble, plus sa viscosité est importante (**Wang, 1994**). La viscosité dépend également, de la concentration de polymère (elle augmente avec la concentration), de la température (elle chute lorsque la température augmente) (**Berth , 1998, Chen ,1998**), du poids moléculaire (la viscosité intrinsèque augmente en fonction de l'augmentation de poids moléculaire) (**Berth.,et al., 1998**) et enfin du pH (plus il est bas ,plus la viscosité est élevée).

Le chitosane peut être caractérisé de façon simple par viscosimétrie. Pour connaître la viscosité, il est nécessaire de connaître les paramètres K et a de la relation de *Mark-Houwink Sakurada* (**Rinaudo et al., 1993**).

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

Où:

$[\eta]$: viscosité intrinsèque.

M : Poids moléculaire moyen.

a et K : constantes pour un système solvant/soluté donné.

I.5.5. Masse moléculaire:

La masse moléculaire (MM) est une caractéristique très importante. Sa détermination nécessite la mise en solution du polymère, elle peut se faire par des mesures viscosimétriques. La valeur de MM d'un chitosane dépend intimement du procédé de fabrication, car celui-ci peut induire une dépolymérisation des chaînes macromoléculaires et/ou une dégradation lors de sa production. Les chaînes du chitosane ont des masses très élevées (jusqu'à 1-3 MDa) dans le cas de produits extraits par des processus contrôlés d'extraction et de désacétylation mais en général, elles sont plus faibles de l'ordre de 100 à 1500KDa. Pour la chitine native, les masses peuvent atteindre plusieurs millions de Daltons. Ces masses dépendent, en fait, du type d'application désirée: par exemple, dans le cas de chitosane commercial pour des applications dans le domaine du traitement des eaux, la MM est généralement comprise entre 100 et 500KDa. La MM affecte la solubilité du chitosane et ses propriétés rhéologiques notamment sa viscosité. Elle peut également influencer significativement sur les propriétés du polymère en solution, comme le paramètre DDA (**Rinaudo et Domard, 1989; No, 1997; Varum et Smidrrrod, 2005**). Par exemple, la viscosité élevée de la solution peut limiter la

possibilité de manipuler des solutions concentrées et ainsi obtenir des matériaux à forte densité en chitosane.

I.6. Les différentes propriétés du chitosane: Rudall, 1969; Sannan et Kurita, 1976 Atkins, 1985; Muzzareli, 1986)

Ces propriétés variant selon la valeur du DDA du polymère

I.6.1. Propriétés physico-chimique:

- Structure D-glucoamine rigide et semi-cristalline
- Aminopolysaccharide linéaire
- La teneur en azote élevée
- Capacité à former des liaisons hydrogène (pouvoir gélifiant)
- Réactivité des groupements amino
- Base faible ($pK_a=6.3$) (caractère nucléophile de la fonction amine)
- Insoluble dans les solvants organiques
- Soluble dans les solutions acides diluées
- Nombreux groupements réactifs (activation chimique)
- Conductivité ionique

I.6.2. Propriétés polyélectrolytes du chitosane en milieu acide:

- Polyamine cationique (interactions avec des molécules anioniques)
- Forte densité de charge
- Excellent flocculant
- Propriétés chélatantes et complexantes
- Propriétés d'encapsulation
- Matériaux pour l'isolation de la biomolécule

I.6.3. Propriétés biologiques:

- Non toxique Biodégradable
- Biocompatible (hémobiocompatible, absorbante, non fermentescible)
- Bioadhésif (mocu-adhésivité, formation de film biologique)
- Bioactif (activités antimicrobienne et antifongique, agents antiulcère et antitumorale, propriétés anticoagulantes et anticholestérol)

I.7. Applications de la chitine et du chitosane:

La faible cristallinité du chitosane par rapport à celle de la chitine explique pourquoi il existe des applications beaucoup plus vastes que celles de la chitine surtout qu'il est

essentiellement extrait à partir de cette dernière. Ainsi la solubilité du chitosane dans des solutions acides et la présence d'une grande proportion des groupements amines le rendent plus réactif et plus susceptible à subir des modifications chimiques. La production et l'utilisation industrielle de la chitine et de chitosane augmentent continuellement depuis les années 1970. Actuellement, à cause de leurs caractéristiques telles que le poids moléculaire, la charge cationique, la formation des films et l'adsorption des métaux lourds, la chitine et le chitosane ont divers champs d'application qui s'étendent de l'agriculture, le traitement d'eau, la fabrication du papier et de produits de beauté, à l'industrie pharmaceutique et la biotechnologie.

I.6.1.Domaine biomédical:

Le chitosane s'avère très efficace pour ses effets hypocholestérolémiques, ses actions anti-ulcère et anti-acide (**Hejazi, 2003**), anti-tumorale, et immuno-activatrices (**Chung et al. 2004 ; Shahidi et Abuzaytoun, 2005**).

I.6.2. Application pharmaceutique:

La principale utilisation du chitosane dans l'industrie pharmaceutique est en tant que matériau enrobant de micro-capsules ou de micro-sphères contenant les substances à délivrer à l'intérieur de l'organisme. L'utilisation d'un matériau tel que le chitosane permet de contrôler la libération des substances par ces systèmes, de mieux atteindre les organes cibles et l'amélioration du taux de solubilité et de la disponibilité des drogues non solubles dans des phases aqueuses (**Ko, 2002**).

I.6.3.Cosmétique:

L'excellente tolérance du chitosane, sa parfaite innocuité, son action sur la régénération cellulaire jointe à ses multiples propriétés, en fait un actif idéal pour des produits hydratants (**Lang et Clausen, 1989**).

I.6.4.Agriculture:

Le chitosane est un biopolymère d'intérêt dans le domaine agroalimentaire. En tant que biostimulateur, favorise la germination et la croissance des plantes, en plus d'augmenter leur rendement. Il possède aussi des propriétés antifongiques qui le rendent fort attrayant pour lutter contre les phytopathogènes. L'application de chitosane induit, chez la plante des mécanismes de défense (synthèse de phytoalexines, chitinases, pectinases, etc.), ce qui fait de ce biopolymère un outil attrayant pour réaliser la lutte antiparasitaire (**Marinard et Biotech, 2005**). D'un point vu environnemental, l'utilisation de ce biopolymère est fort acceptable puisqu'il contribuerait à réduire l'utilisation de pesticides et de fertilisants chimiques, deux

types de substances responsables d'importantes répercussions sur les milieux naturels et sur la santé humaine.

I.6.5. Agroalimentaire:

Selon **Muzzarelli et Muzzarelli, (2003)**, les principales applications du chitosane dans le domaine agroalimentaire sont:

Applications antibactériennes; applications antifongiques; fabrication de pellicules pour les produits comestibles et Clarification et désacidification des jus de fruits; -récupération des matières en suspension dans les effluents des industries de transformation agroalimentaire afin de réduire la demande chimique en oxygène de l'eau usée rejetée.

I.6.6. Domaine de traitement des eaux:

Les propriétés polyélectrolytes, chélatantes et complexantes du chitosane en font un bon candidat pour les applications environnementales (**Sandford, 1989; Goosen, 1997; Kumar, 2000; Struszczyk, 2002**), dans le domaine du traitement des eaux usées. Le chitosane peut être utilisé aussi bien à l'état solide qu'en solution.

Cette application étant basée sur le caractère polycationique de polymère en milieu acide, son efficacité varie selon la concentration en polymère et le pH du milieu (**No et Meyers, 2000; Guibal, 2004**). Néanmoins, la solubilité de chitosane en milieu acide ouvre la porte en traitement des eaux, à de nombreuses applications dans le domaine de coagulation-floculation, de la chélation, de l'adsorption ou de l'ultrafiltration assisté par complexation. Le chitosane peut être utilisé seul ou en combinaison avec d'autres coagulants, tels les sels métalliques d'aluminium ou de fer.

Le grand intérêt à utiliser ce composé d'origine biologique comme agent flocculant provient du fait qu'il est biodégradable et pratiquement non-toxique (**Knorr, 1983**). Actuellement, dans la majorité des cas, les particules colloïdales, comme les protéines ou les huiles, sont retirées à l'aide d'un procédé chimique de coagulation-précipitation à l'aide de sulfate d'aluminium ou de chlorure de polyaluminium, deux agents coagulants efficaces et peu dispendieux (**Ruhsing Pan et al, 1999**). Cependant, l'utilisation de ces sels d'aluminium peut causer une augmentation de la teneur en aluminium dans l'eau potable et ainsi avoir un impact considérable, à long terme, sur la santé humaine. L'aluminium peut aussi avoir des répercussions négatives sur les milieux naturels s'il s'y retrouve en trop grandes concentrations (**Wang et al. 2004**).

Le procédé de coagulation-floculation par ajout de chitosane est actuellement utilisé dans la moitié des cas de traitement d'eaux usées au Japon, et selon une proportion variable dans

certaines autres pays asiatiques (**Jourdin, 2001**). Cependant, en Amérique du Nord, son utilisation est quasi inexistante.

II.1.Introduction:

La chitine provenant des carapaces de crustacés s'organise sous forme de complexes protéiques enchevêtrés dans un réseau de sels minéraux principalement constitué de carbonate de calcium. L'association des protéines à la chitine se fait par différents modes d'interactions faisant intervenir les forces de **Van der Waals (~2%)**, des liens ioniques (~3%), des agglomérations stériques (~15%), des liens hydrogènes (~25%) et des liens covalents (~55%). (**Roberts, 1992**). Par des études de diffraction des rayons X, **Rudall et Kenchington (1969)** ont observé des répétitions régulières de liaisons protéiques à des intervalles de **31 Å** sur la chaîne de chitine. La purification complète de la chitine nécessite l'enlèvement des constituants principaux : protéines, minéraux, lipides et pigments caroténoïdes. La présence de liens covalents chitine-protéine nécessite, généralement, des processus de déprotéinisation sévères. Il en est, de même, pour les méthodes de déminéralisation en milieu acide.

Les Lipides et pigments étant associés aux protéines, ceux-ci sont majoritairement arrachés de la chitine lors de la déprotéinisation. Ceux qui n'ont pas été éliminés lors des traitements de déprotéinisation et de déminéralisation sont enlevés par un lavage final à l'acétone (**Cira et al., 2002**).

L'extraction de la chitine peut se faire par deux méthodes: la méthode chimique et la méthode biologique. Le procédé de récupération de la chitine est résumé dans la Figure II.1

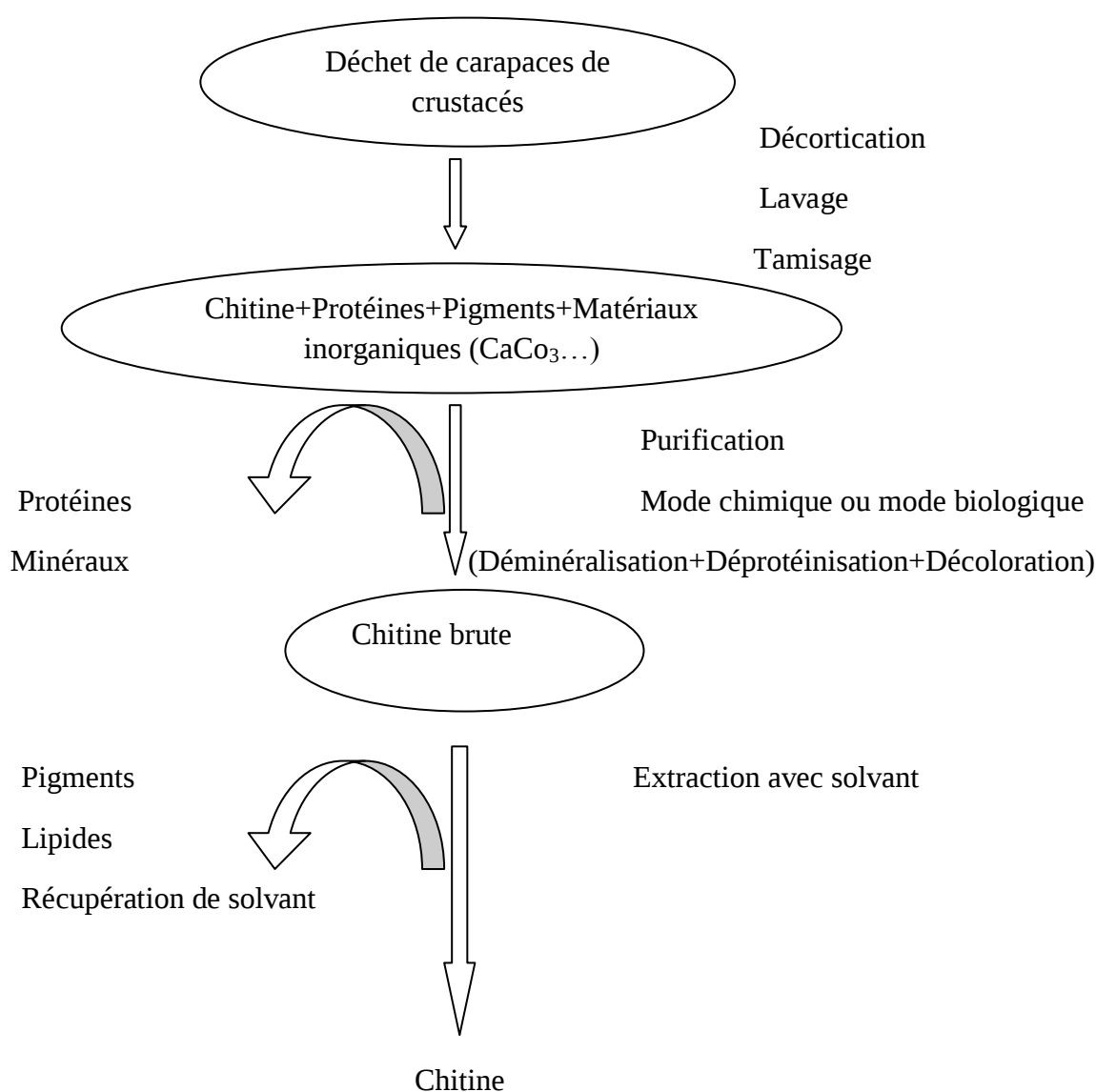


Figure II.1: Schéma présentant l'extraction de la chitine par voies chimique et biologique (Onsoyen et Skaugrud, 1990).

II.2.Préparation de la chitine par voie chimique:

La chitine est extraite en trois étapes:

- **Déminéralisation** par hydrolyse acide pour éliminer les minéraux;
- **Déprotéinisation** par hydrolyse basique pour éliminer les protéines;
- **Décoloration** (ou blanchiment): étape facultative pour éliminer les pigments.

Entre ces différentes étapes, des opérations de lavage sont nécessaires (**Roux, 2009**).

- **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 M. La durée de traitement acide est de l'ordre de 1 à 48h à la température ambiante (**Nugraha, 2006**).

- **Déprotéinisation:** A l'état naturel, la chitine se présente en association avec les protéines (chitinoprotéines). Ces protéines sont éliminées par un traitement basique en utilisant, en général, des solutions à base de NaOH, Na₂CO₃, NaHCO₃, KOH, K₂CO₃, Ca(OH)₂, Na₂SO₃, CaSO₃ ou Na₃PO₄ à des concentrations variables de 0,1 à 5 M. La solution d'hydroxyde de sodium (~10% massique) est la plus souvent utilisée pour dissoudre les protéines. La durée du traitement basique est variable et de l'ordre de 0,5 à 72 heures et à haute température (65-100 °C) (**Nugraha, 2006**).
- **Décoloration (blanchiment):** Pour les applications industrielles, la chitine obtenue à partir des ressources de crustacées doit être décolorée après les traitements acides et alcalins (**No et al., 1989**). Le pigment dans les carapaces de crustacées forme un complexe avec la chitine. Il peut être enlevé par des réactifs tels que l'éthanol, l'éther, solution d'hypochlorite de sodium NaOCl (**No et al., 1989**), peroxyde d'hydrogène H₂O₂ (**Moordjani et al., 1975; Brine, 1981**)...etc

Cependant, la méthode chimique présente de nombreux inconvénients. Parmi eux, on cite:

a-la pollution chimique provoquée par les effluents acides et basiques produits lors de l'extraction de la chitine ainsi que le coût élevé de leur traitement avant qu'ils soient évacués dans l'environnement (**Yang et al., 2000; Shirai et al., 2001; Jung et al., 2005a**). Ces traitements conduisent à l'augmentation du prix de revient de la chitine.

b-L'utilisation de HCl ou NaOH à une température élevée conduit également à la dépolymérisation, à la désacétylation de la chitine donnant naissance à des produits de qualité variable, non reproductible et non homogène (**Gagné, 1993; Yang et al., 2000; Legros et al., 2001; Shirai et al., 2002**).

II.3.Préparation de la chitine par voie biologique:

C'est autre méthode qui a été mise en évidence pour remplacer la méthode chimique en raison de ces nombreux inconvénients cités précédemment (**Evonne et Lee, 2002**). Cette méthode est basée sur l'utilisation des microorganismes (**Gagné, 1993**). Elle conduit à la formation d'une fraction liquide riche en protéines, en minéraux et en pigments et une fraction solide: la chitine (**Rao et al. 2000**). Ce pigment est récupéré après une réaction de décoloration qui a lieu en utilisant une solution d'hypochlorite de sodium (**No et al., 1989**) ou un mélange de chloroforme, méthanol, eau distillée (**Cira et al., 2002**).

La déminéralisation biologique des carapaces de crevettes fait intervenir l'acide lactique produit par la bactérie suite à la dégradation de la source de carbone présente dans le milieu de fermentation, par la bactérie lactique. Cette fermentation provoque un abaissement du pH, qui a pour effet d'éviter les contaminations et de déminéraliser les carapaces. La réaction de l'acide lactique avec le carbonate de calcium conduit à la formation du lactate de calcium qui peut être éliminé par un simple lavage. Quand à la déprotéinisation, elle est assurée par les protéases produites par les bactéries lactiques additionnées, les bactéries résiduelles et/ou les protéases présentes dans les déchets de crevettes (**Rao et al., 2000**).

De nombreuses recherches sur l'utilisation des protéases pour la valorisation des rejets solides de poissonneries ont été réalisées. La pepsine est une des enzymes utilisées pour obtenir un concentré protéique à haute valeur nutritionnelle (**Benhabiles, 1992**). Dans le cas de l'extraction de la chitine, l'addition des protéases commerciales telles que l'alcane (**Synowiecki et Al-Khateeb, 2000**), la papaïne (**Evonne et Lee, 2002**) et les protéases de *Bacillus subtilis* (**Yang et al., 2000**), améliorent la déprotéinisation produisant ainsi une chitine de bonne qualité (**Evonne et Lee, 2002**).

II.4. Transformation de la chitine en chitosane :

La chitine obtenue par voies chimique ou biologique, peut être ensuite désacétyler pour obtenir le chitosane. Deux méthodes sont utilisées:

- Chimique réalisée à haute température en présence d'une base concentrée (**Brugnerotto, 2001**).
- Enzymatique en présence de la chitine-désacétylase (**Le Roux, 2009**).

La désacétylation de la chitine, consiste à substituer le groupement acétyl par un atome d'hydrogène, qui donne du chitosane comme résidu (**Figure II.2**)

Il existe une multitude de méthodes de préparation du chitosane (**Rudall, 1969; Sannan et Kurita, 1976; Atkins, 1985; No, 1997; Muzzarlli et Peter 1997; Struszczyk, 2002; Vineyand, 2002; Sandford, 2003; Hudson et Jekins, 2003**). En général, le chitosane est produit par une désacétylation partielle de la chitine dans une solution d'hydroxyde de sodium concentrée à une température de 110-115°C durant quelques heures, en atmosphère inerte et en présence d'un agent réducteur (NaBH_4). Le chitosane obtenu possède généralement un taux de désacétylation de 70-80 % (**Muzzarlli, 1973**). Il se présente sous la forme d'un solide amorphe ayant une couleur orange brulé.

Dans des conditions acides ou basiques, la majorité des groupements amides sont, en principe, hydrolysables. Mais, à cause de la fragilité des liaisons glycosidiques de la chaîne de

chitine, l'hydrolyse acide est à éviter dans ce genre de réaction. En outre, l'arrangement trans des substituants en C-2 et C-3 augmente la résistance du groupement acétamide en position C-2 à l'hydrolyse alcaline (**Babak et al., 1999**). En jouant sur la durée du traitement alcalin et sur la température, il est possible d'obtenir différentes qualités de chitosane à partir d'une même chitine.

L'équation suivante montre la réaction de désacétylation de la chitine

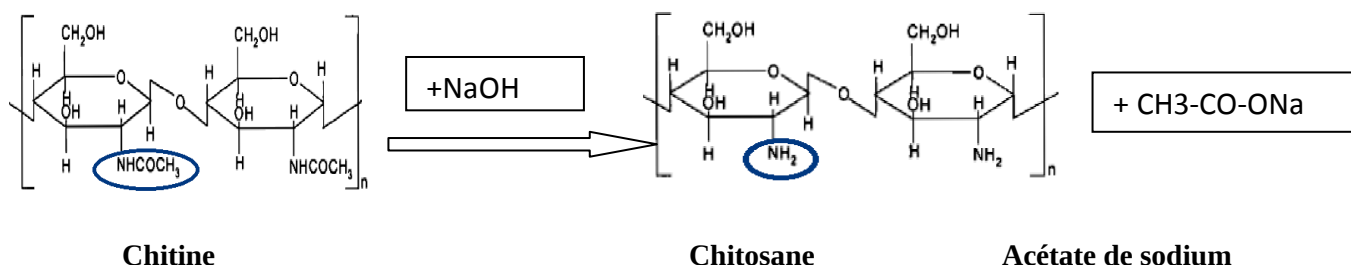


Figure II.2: Réaction de désacétylation de la chitine (Kumer, 2000.)

Si l'étape de désacétylation est répétée plus d'une fois, le DDA peut atteindre les 95-96 %. Si une désacétylation complète est obtenue après plusieurs étapes du processus, la longueur des chaînes devient relativement petite à la fin du traitement. Pour éviter ce problème, l'utilisation du thiophénolate de sodium a été proposée. Ce dernier joue un rôle de catalyseur de la réaction tout en protégeant les chaînes du polymère de la dégradation.

La qualité du chitosane varie selon l'origine de la matière utilisée (crevettes, crabes, calamars...) et la procédure expérimentale d'extraction de la chitine ainsi que l'étape de désacétylation (**Rauch et Dornish ,2006**). Pour cela, il est nécessaire de bien choisir le traitement pour désacétyler la chitine, pour minimiser au maximum la dégradation de la chaîne du polysaccharide tout en obtenant une désacétylation régulière le long des chaînes du polymère (**Babak et al., 1999**), afin de préparer un chitosane qui est non dégradé et parfaitement soluble dans l'acide dilué (acide acétique, acide lactique, acide critique,...) (**Suyatma, 2006**).

Les principaux producteurs actuels de chitine et du chitosane sont les Etats-Unis, le Canada, l'Inde et le Japon. La production mondiale de chitine est estimée entre 2000 et 3000 tonnes par an, dont 60-70 % sert à produire le chitosane (**Muzzareli, 1986**). Le prix de vente du chitosane varie entre 20 et 10 000 euros le Kg, en fonction de ces caractéristiques.

II.5 Méthodes de caractérisation du chitosane:

Différentes méthodes ont été proposées pour déterminer le contenu du chitosane en acétamide. Parmi celles-ci, l'analyse élémentaire (analyse du % d'azote), par titrages potentiométriques ou conductimétriques, par diffraction de RX, par spectrométries Infrarouge à transformée de Fourier et UV, la chromatographie, ou encore par résonance magnétique nucléaire(RMN) liquide ou solide (essentiellement proton¹H et carbone ¹³C, voire ¹⁵N). La technique Infrarouge est la plus adaptée pour une caractérisation rapide et simple, et la technique RMN la plus précise, dès lors que le polymère est parfaitement soluble dans l'eau deutériée en présence d'acide chlorhydrique, par exemple.

III.1. Introduction:

La pollution de l'eau est due aux activités humaines (domestiques, industrielles et agricoles) et surtout aux substances synthétiques produites par l'industrie de la chimie. Quand l'eau est polluée, la décontamination devient nécessaire; pour cela, une multitude de procédés ont été proposés dans les procédés de coagulation-floculation tels que: précipitation, extraction, traitement électrochimique, coagulation...etc. Les coagulants et les floculants fréquemment utilisés sont des additifs minéraux y compris les sels métalliques tels que le chlorure de polyaluminium PACl et autre polymères synthétiques. L'utilisation de ces substances chimiques peut avoir plusieurs conséquences sur l'environnement:

- (i) une augmentation de la concentration des métaux dans l'eau;
- (ii) la production de grands volumes des boues (toxiques);
- (iii) la dispersion des oligomères acrylamide qui peut aussi être un danger pour la santé.

Afin de palier à ces problèmes, des coagulants et des floculants alternatifs (les biopolymères) ont été envisagés pour leur grand intérêt car ils sont des produits naturels caractérisés par leur comportement non nocif à l'environnement. Parmi eux, le chitosane qui peut être considéré comme l'un des matériaux les plus promoteurs dans ce procédé (**Grégorio et al., 2007**).

III.2. Principe de la coagulation-floculation:

Le procédé de coagulation-floculation peut-être employé pour retirer plusieurs types de substances organiques et inorganiques : les graisses, les huiles, le phosphore, la matière en suspension (MES), les métaux lourds, etc. Ce procédé permet donc la réduction de la demande biochimique et chimique en oxygène (DBO et DCO), de même qu'une réduction des populations bactériennes.

Pour bien comprendre les procédés de coagulation et de floculation il convient de distinguer les phases successives du processus. En premier lieu, on ajoute à l'eau une substance chimique coagulante. Ce réactif ne peut agir de manière uniforme que s'il est réparti rapidement dans toute la masse liquide. Cela exige donc une agitation (ou un mélange) forte au point d'introduction du coagulant. En second lieu, il se produit un ensemble complexe de réactions et de modifications chimiques et physico-chimiques aboutissant à la coagulation et à la formation de particules microscopiques. En troisième lieu, en agitant l'eau plus doucement cette fois on provoque l'agglomération de ces fines particules, autrement dit la floculation, dont le produit dénommé <<floc>> sédimente.

Les quantités d'agent coagulant requises pour traiter une eau usée dépendent essentiellement des facteurs suivants: le pH, l'alcalinité, la concentration en phosphate et le point d'injection du coagulant. De son côté, l'efficacité des procédés de coagulation-floculation repose sur les caractéristiques de l'eau usée à traiter et les conditions de brassage. **(EPA, 2000a)**. Le choix du bon coagulant ou floculant dépendra essentiellement de deux facteurs : l'efficacité et le coût par rapport aux autres alternatives **(Casey, 1997)**.

III.3. Types de coagulants et de floculants:

Plusieurs agents chimiques peuvent être employés dans le procédé de coagulation-floculation., Les sels métalliques sont, indéniablement, les coagulants d'origine minérale les plus utilisés dans le monde actuellement. Plusieurs types de coagulants et de floculants inorganiques sous formes de polymères ont été développés et sont maintenant largement utilisés en Chine, au Japon, en Russie et en Europe de l'Est **(Wang et al . 2004)**. D'autres recherches montrent que l'utilisation des polymères d'origine biologique est une avenue forte prometteuse.

III.3.1. Les coagulants et les floculants inorganique:

III.3.1.1. Les coagulants et floculants de type sels métalliques:

Il faut noter que les sels métalliques peuvent être utilisés seuls ou combinés. Généralement, on les utilise avec un floculant afin d'augmenter l'efficacité du procédé.

a- Alun– $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 14\text{H}_2\text{O}$:

Il est utilisé pour réduire la dureté ainsi que la charge en phosphate des eaux usées. En solution, il réagit avec les composés alcalins présents (carbonate, bicarbonate et hydroxyde) ou le phosphate pour former un sel d'aluminium insoluble **(EPA, 2000a)**.

b-Chlorure ferrique– FeCl_3 :

Il réagit selon l'alcalinité et la concentration en phosphate pour former un sel de fer insoluble **(EPA, 2000a)**.

c-Sulfate Ferreux– $\text{Fe}(\text{SO}_4)$:

Il est généralement utilisé avec CaO pour réduire la dureté de l'eau. La combinaison des deux coagulants génère du sulfate de calcium et de l'hydroxyde ferrique. L'eau usée doit cependant contenir de l'oxygène dissous afin que la réaction puisse prendre place. **(EPA, 2000a)**.

d-Oxyde de Calcium–CaO (lime):

Il produit du carbonate de calcium dans l'eau usée et permet ainsi la coagulation des matières particulaires et de certains métaux. Il est généralement utilisé avec d'autres coagulants puisque de très grandes quantités de CaO sont souvent nécessaires lorsqu'il est utilisé seul.

e- La silice activée:

Le principal agent flocculant d'origine minérale employé dans le domaine de traitement des eaux est la silice activée. Ce composé offre de bons rendements lorsqu'il est associé au sulfate d'aluminium en eau froide. Un inconvénient accompagne l'utilisation de la silice, elle doit être préparée juste avant son utilisation, vu sa faible stabilité (**Degrémont, 2005**).

Plusieurs avantages et inconvénients accompagnent l'utilisation des agents chimiques présentés ci-dessus (**Ndabigengesre et Narasiah, 1998 ; EPA, 2000a; Semerjian et Ayoub, 2003**).

Les avantages:

- L'utilisation de ce procédé chimique est très répandue.
- Les systèmes de coagulation-floculation chimique sont généralement automatisés et demandent donc peu de surveillance et d'entretien;
- La présence de composés toxiques dans l'effluent à traiter n'est pas gênante et le système est stable lorsque soumis à des températures variables;
- Contrairement au système biologique, un système de coagulation-floculation chimique peut accommoder une grande variété de charges et de débits.
- Contrairement aux systèmes biologiques, un système chimique de traitement primaire requiert moins d'espace et les coûts d'installation sont moins importants;
- Une réduction significative est obtenue en terme de micropolluants, de métaux lourds, de bactéries et de virus;
- Les systèmes chimiques de coagulation-floculation peuvent être conçus afin d'obtenir un produit à valeur ajoutée.

Les inconvénients :

- Puisqu'il y a plusieurs réactions en compétition dans ce type de système chimique et plusieurs degrés d'alcalinité, en plus des, autres facteurs influençant le procédé, il est particulièrement difficile d'établir des bons dosages;
- Les coagulants utilisés sont souvent corrosifs, des normes de sécurité doivent être respectées;
- L'addition de coagulant, principalement CaO, peut augmenter le volume des boues jusqu'à 50%;
- De grandes quantités de substances chimiques doivent être acheminées à l'usine de traitement;

- La présence d'aluminium résiduel peut entraîner des problèmes importants pour la santé comme l'Alzheimer et autres pathologies de ce genre. Le fer aussi est toxique pour la faune;
- L'utilisation de l'alun, à cause de son interaction avec les substances alcalines provoque une réduction importante du pH;
- En eau froide, le processus est peu efficace;
- Pour les pays en voie de développement, les coagulants chimiques peuvent être trop coûteux.

III.3.1.2. Les coagulants de type sels métalliques polymérisés:

Il existe plusieurs coagulants de ce type, notamment ceux à base d'aluminium et ceux à base de fer. Parmi ceux-ci, le chlorure de polyaluminium (PACl) est celui dont l'usage est le plus répandu dans le traitement des eaux usées. Voici les avantages et les inconvénients qui accompagnent leur usage (**Wang and al ., 2004**) sont les suivants:

Les avantages:

- Efficacité supérieure aux sels inorganiques traditionnels (alun ou sels ferriques);
- Prix inférieur aux coagulants traditionnels comme l'alun;
- Efficacité moins affectée par les changements saisonniers des paramètres de qualité de l'eau.

Les inconvénients:

- Les polymères à base d'aluminium comme PACl sont potentiellement toxiques pour l'homme et les milieux naturels;
- La toxicité de l'aluminium a ainsi encouragé le développement de polymères à base de fer. Cependant, contrairement aux polymères à base d'aluminium, ces polymères sont encore au stade de développement (**Wang et al., 2004**).

III.3.1.3. Les flocculants de type polymères (polyélectrolytes) synthétiques:

De manière générale, ce sont des composés de haut poids moléculaires 104-106 Da de types anioniques, cationiques ou non ioniques. L'intensité de la charge d'un polymère dépend de son degré d'ionisation qui dépend à son tour des charges sur les groupes fonctionnels, du degré de copolymérisation et de la quantité de groupements fonctionnels qui ont été substitués (**Ebeling et al ., 2005**).

En solution, ils ont un taux de diffusion relativement bas et ils augmentent la viscosité. Le brassage est donc nécessaire à la dispersion des polymères. Ils peuvent être employés pour la

neutralisation, l'émulsion et/ou pour créer des ponts entre les particules colloïdales (**EPA, 2000**).

Les polymères peuvent être utilisés seuls ou combinés avec les sels métalliques.

Les avantages:

- Pas besoin d'un dosage très précis;
- Réduit le volume de boues produites;
- Facile à entreposer et à brasser;
- Le poids moléculaire et la charge peuvent tous deux être optimisés selon le type d'effluent à traiter;
- Pas besoin d'ajuster le pH;
- Augmente la résistance des floes aux forces de cisaillement.

Les inconvénients:

- Les polymères peuvent être toxiques pour la faune;
- L'utilisation de polymères synthétiques est coûteuse et donc pratiquement inenvisageable pour les pays en voie de développement.

III.3.2. Les coagulants et floculants d'origine naturelle:

❖ **Les coagulants d'origine naturelle.**

Comme l'ont relevé certaines études, les coagulants à base d'aluminium, de fer et même les polymères synthétiques présentent un désavantage important : leur toxicité probante pour l'environnement. Cela a donc poussé quelques chercheurs à investiguer la possibilité d'utiliser des composés d'origine naturelle pour réaliser le procédé de coagulation-floculation (**Ndabigengesere et Narasiah, 1998**).voici quelques exemples de coagulations naturels:

a-Extraits de graines de *Moringa olfeifera*:

Cette technique de purification de l'eau était déjà employée au siècle dernier par les femmes soudanaises (**Jahn, 1988**). Ainsi, en extrayant dans une solution aqueuse le contenu des graines séchées de *Moringa olfeira*, une plante tropicale appartenant à la famille des Moringaceae, on obtient un coagulant aux propriétés fortes intéressantes. Il existe une quarantaine de variétés de cette plante, certaines affichant de meilleures performances dans le traitement des eaux usées (**Ndabigengesere et Narasiah, 1998**). Plusieurs études montrent que cet extrait de plante offre de bons rendements pour réduire la turbidité, la présence de microorganismes, la dureté de l'eau et enfin pour le conditionnement des boues. La molécule active responsable des propriétés coagulantes est une protéine dimérique cationique de 13 kDa. (**Vaillancourt, 2008**)

Les avantages:

- Outre son utilisation comme coagulant, *Moringa olfeira* peut-être utilisée comme plante médicinale et comme aliment (huile, légume);
- N'affecte pas significativement le pH, la conductivité, l'alcalinité, la concentration des ions, sauf pour les nitrates et les orthophosphates qui voient leurs concentrations augmenter durant la réaction;
- Comparée à l'alun, l'extrait de graine n'affecte pas le pH, il est donc moins corrosif;
- Le volume des boues produites est moins grand qu'avec l'alun et ces boues ne sont pas toxiques, elles peuvent donc être valorisées facilement;
- Le coût d'utilisation est beaucoup plus bas que les traitements chimiques. C'est donc une alternative envisageable tant pour les pays en voie de développement que pour les pays développés.

Les inconvénients :

- L'extrait aqueux provenant des graines augmente considérablement la quantité de matière organique dans l'eau usée, ce qui cause des problèmes d'odeurs, de couleurs et de goût lorsque l'eau est stockée plus de 24 h. Il est donc recommandé d'utiliser un extrait contenant la protéine active uniquement pour traiter une eau qui sera consommée.
- Le développement de la technologie doit se faire à grande échelle pour que le coût de l'extraction de la protéine active soit abordable.

b-Autres coagulants naturels:

D'autres études documentent l'utilisation d'une gomme faite à base de graines d'*Ipomoea dasysperma* (Sanghi et al ., 2006a) ,ou de *Cassia javahikai* (Sanghi et al ., 2006b) comme agents coagulants dans le traitement des eaux usées dans l'industrie du textile. Ces produits d'origine naturelle semblent être des alternatives envisageables pour remplacer l'alun, le chlorure ferrique ou les polymères à base d'aluminium en raison de leur biodégradabilité, leur coût peu élevé et de leur non toxicité pour l'homme et l'environnement. Les paramètres qui affectent, le plus, le rendement de ce genre de coagulant sont le pH du milieu et la dose utilisée.

❖ **Les floculants d'origine naturelle:**

a-Alginates : Les alginates de sodium sont extraits de l'acide alginique, un composé provenant d'algues marines. Ces produits sont particulièrement employés en combinaison avec les sels ferriques, mais peuvent donner de bons résultats avec les sels d'aluminium (Degrémont, 2005).

b-Amidons : Obtenus de la pomme de terre, du tapioca ou d'autres végétaux, ces polymères de glucopyranose non linéaires ramifiés sont utilisés de préférence avec les sels d'aluminium. Une fois dilués, leur biodégradation peut-être rapide (Degrémont, 2005).

Autres composés : Plusieurs polysaccharides naturels ont des propriétés floculantes (cellulose, gommés, tanins, xanthanes), mais ils sont très peu utilisés dans le traitement des eaux (**Degrémont, 2005**).

III.4. Le processus de coagulation et de floculation:

Lors du processus complexe de coagulation-floculation, il s'agit de déstabiliser les particules colloïdales et à provoquer leur agglutination pour en faire des flocons qui se prêtent à la sédimentation.

Pour vaincre l'énergie d'interaction entre les particules colloïdales, il existe deux possibilités: la diminution du potentiel zêta, en ajoutant des réactifs minéraux contenant des cations multivalents qui seront adsorbés au niveau de la surface colloïdale. Il va y avoir donc une neutralisation de charge électrique, appelée généralement coagulation; l'utilisation, comme réactif de floculation, des polymères organiques qui permettent de rassembler les colloïdes non seulement par réduction de charge électrique, mais également par des effets de pontage entre colloïdes. Ces réactifs macromoléculaires agissent à la manière d'un filet dans lequel sont emprisonnées les particules. C'est, en général, à cette forme de déstabilisation qu'on réserve le terme floculation, le terme coagulation étant employé essentiellement pour caractériser une déstabilisation des particules colloïdales par réduction de charge.

Après avoir été déstabilisées, les particules colloïdales ont tendance à s'agglomérer lorsqu'elles entrent en contact les unes avec les autres. La floculation a justement pour but d'augmenter la probabilité des contacts entre les particules.

On distingue ainsi quatre mécanismes de base pour la déstabilisation des particules colloïdales (**Benfield et al., 1982 ; Desjardins, 1988**) : compression de la double couche (coagulation électrostatique) ; adsorption et neutralisation des charges; emprisonnement des particules dans un précipité; adsorption et pontage.

III.4.1.Compression de la double couche (coagulation électrostatique):

L'ajout d'un électrolyte à une dispersion colloïdale augmente la densité de charge dans la couche diffuse favorisant ainsi sa contraction. Cette contraction a pour effet de modifier la distribution des forces répulsives de la double couche au sein de la particule colloïdale, entraînant une réduction du potentiel de surface. Néanmoins, la quantité d'électrolyte requise pour la coagulation par compression de la double couche n'est pas stœchiométrique et elle est pratiquement indépendante de la concentration du colloïde, bien que l'augmentation de la concentration en électrolyte permette d'intensifier les forces d'attraction de Van der Waal, favorisant ainsi l'aggrégation des particules. A une concentration élevée en électrolyte. La force

de répulsion s'atténue et l'agglomération des particules s'accroît davantage, rendant irréversible le processus de coagulation. Ainsi aucune restabilisation d'une dispersion des particules due à une inversion de charge n'est possible après ajout d'un surplus de coagulant **(Benefield et Judkins, 1982)**

III.4.2. Adsorption et neutralisation des charges:

Des espèces chimiques peuvent s'adsorber à la surface des particules colloïdales, surtout si l'espèce adsorbée porte une charge opposée à celles des particules. Ceci cause une diminution du potentiel de surface et une déstabilisation des particules colloïdales. Le mécanisme de déstabilisation par adsorption diffère de celui impliquant la compression de la double couche par trois caractéristiques principales:

- L'adsorption est la cause essentielle de la déstabilisation même pour de faibles quantités de molécules adsorbées; dans ce sens, les espèces adsorbables sont capables de déstabiliser les colloïdes à un dosage beaucoup plus faible que les espèces non adsorbables;
- La déstabilisation par adsorption est stœchiométrique;
- Il est possible qu'un excès en espèce adsorbable entraîne une redispersion de la charge des particules colloïdales; l'adsorption des ions au-delà du point de neutralisation jusqu'à inversion de la charge peut être expliquée par une prédominance des interactions chimiques sur les forces de répulsion électrostatique dans certains cas **(Benefield et Judkins, 1982)**.

III.4.3. Emprisonnement des particules dans un précipité:

Le chitosane présente des propriétés coagulantes causées par l'existence de charges électriques le long de ces chaînes **(Benefield et Judkins, 1982)**. Les charges électriques, partielles, portées par les chaînes polymériques du chitosane peuvent aussi jouer le rôle d'agent de floculation, non seulement par réduction des charges électriques de surface, mais également par effets de pontage entre colloïdes. La déstabilisation des suspensions s'effectue alors selon un processus d'emprisonnement et d'entraînement des particules dans un précipité. Un tel processus n'est pas stœchiométrique et ne dépend pas de la charge du coagulant **(Edeline, 1992)**.

III.4.4. Adsorption et pontage:

Les polymères, aussi bien cationique qu'anionique, sont tous capables de déstabiliser une suspension de particules colloïdales chargées négativement. Cependant, ni le modèle de la compression de la double couche, ni celui de la neutralisation de charge ne peuvent expliquer

ce phénomène. Dans ce sens, une théorie dite des <<ponts chimiques>> a été développée (Ruehrwein, 1952; LaMer et Healy, 1963). Les macromolécules de chitosane, lorsqu'elles sont assez longues, peuvent attirer des ions, des molécules et des particules de nature diverses, dont celles qui leur ressemblent et qui sont de même nature. Dans ce cas, le phénomène est décrit par la formation de ponts entre les particules colloïdales par l'intermédiaire des macromolécules de chitosane, comme l'illustre la Figure III.1.

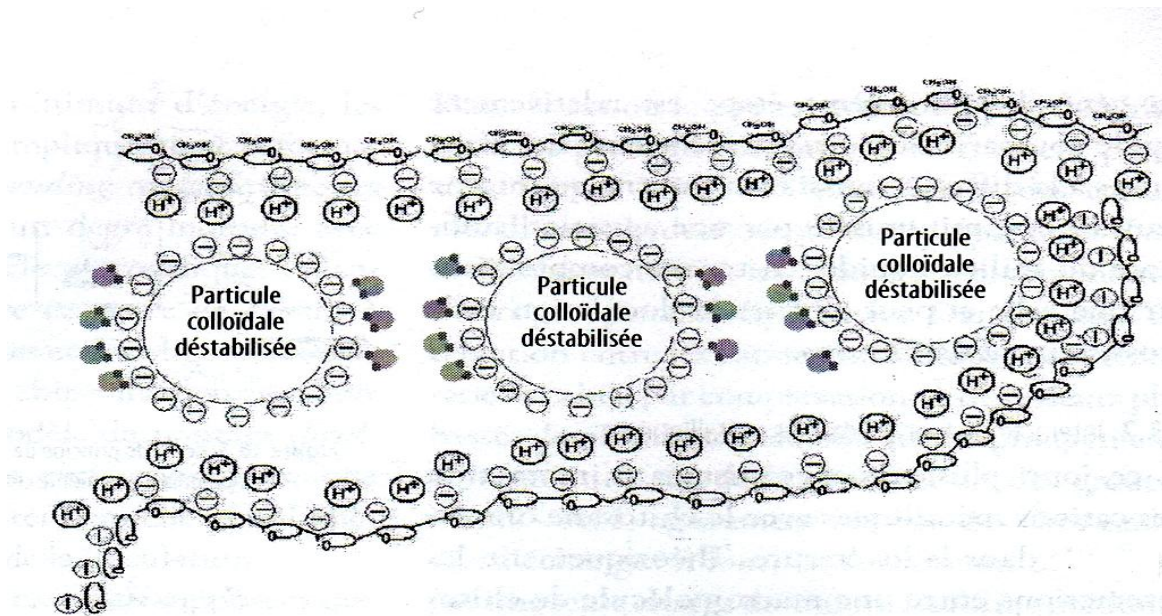


Figure III.1: Principe de la floculation par pontage.

Il peut y avoir restabilisation de la suspension, et ainsi, les sites libres de plusieurs chaînes polymériques s'accrochent à une même particule colloïdale. La fixation de ces chaînes sur la particule peut résulter d'une attraction coulombienne, de liaisons hydrogène, de forces de Van der Waals ou d'échanges d'ions (Weber, 1972; Frenchi et O'Melia, 2003).

III.5 Les avantages et inconvénients de l'utilisation du chitosane:

Ils peuvent être résumés comme suit :

Les Avantages:

- Biodégradable et pratiquement non-toxique pour l'humain et les écosystèmes;
- Réduction importante des MES et de la DCO (cette réduction peut varier selon le type d'effluent à traiter);
- Il permet de réduire de manière importante les quantités de sels d'aluminium (réduction de 2/3) lorsqu'il est utilisé comme flocculant dans le traitement des eaux usées municipales;

- En aquaculture, il permet une réduction substantielle du phosphore lorsqu'il est utilisé avec le chlorure ferrique. Près de 80% de réduction du phosphore dissous lorsque le chitosane est utilisé à raison de 0.1 ppm avec diverses concentrations de chlorure ferrique (**Marinard, 2001**).

Les inconvénients:

- L'utilisation du chitosane est plus coûteuse comparativement aux sels métalliques;
- Le chitosane serait hautement toxique pour la truite arc-en-ciel selon l'étude de **Bullock et al. (2000)**. La mort survient après 24 h, 6 et 14 jours d'exposition pour des concentrations respectivement de 0.75 ppm, 0.075 ppm et 0.019 ppm de chitosane acidifié;
- Au même titre que les autres coagulants et floculats utilisés, l'efficacité dépend de plusieurs facteurs tels que sa concentration en solution, sa charge globale et la densité de charge (niveau de **désacétylation**), son poids moléculaire, les caractéristiques de l'effluent et les paramètres physiques (énergie de brassage, pH, température, etc.).

IV.1 Introduction

L'objectif de ce travail réside dans la production, à température ambiante, des chitosanes en vue de leur utilisation dans le traitement des eaux usées urbaines par les procédés de coagulation-floculation. Pour cela, deux chitines ont été utilisées: une chitine commerciale (Fluka) purifiée par voie chimique et extraite des déchets de crabes et de crevettes et qu'on nommera la chitine A, la seconde est une chitine biologique purifiée par voie fermentaire et extraite de la carapace des crevettes blanches pêchées sur le littoral algérien (**Arbia.L , 2010**) et qu'on nommera la chitine B.

La 1^{ère} étape de cette étude a été consacrée à la préparation des chitosanes par la méthode de désacétylation. Selon la bibliographie, celle-ci peut être réalisée selon deux voies conduisant à des taux de DDA supérieur à 70% (**Pelletier et al., 1990; Niola, 1991; Chatterjee et al., 2005**): la voie enzymatique dite désacétylation hétérogène qui fait appel aux enzymes (**Frehaut, 2002; Nwe et Stevens, 2002**). Cette voie nécessite l'emploi d'enzymes pures souvent difficiles à isoler ainsi que des quantités importantes d'enzymes (691mg de chitosanase/g de chitine) (**Plonski et al., 1990**). Dans l'autre voie, en général, le chitosane est produit par une désacétylation partielle de la chitine brute (**Muzzarelli, 1973; Yang et Zall, 1984**) dans une solution d'hydroxyde de sodium concentrée (40-50 %), à température de 110-115°C durant quelques heures, en atmosphère inerte et en présence d'un agent réducteur (NaBH_4) (**No et Meyers, 1995**). Vu l'inconvénient majeur de cette méthode qui réside dans la consommation de l'énergie pour atteindre des températures élevées, nous avons opté dans ce travail à la désacétylation chimique des deux chitines à température ambiante dans un milieu alcalin non agité.

Dans la 2^{ème} étape, les deux chitosanes issus des chitines A et B ont été obtenus et qu'on nommera chitosanes A et B, respectivement, conformément à la réaction suivante:

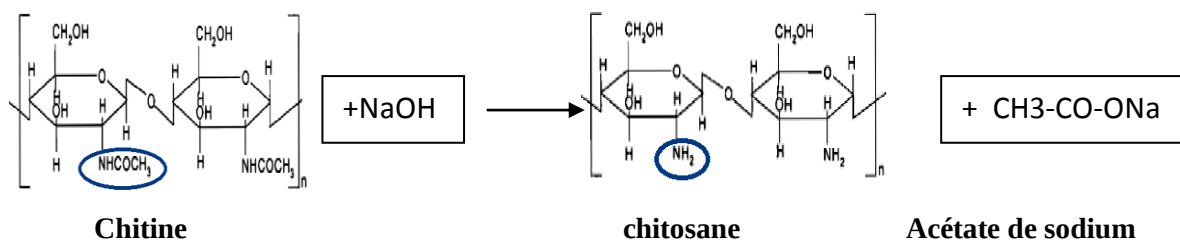


Figure 1: Réaction de désacétylation de la chitine (Ravi Kumer., 2000).

Les deux produits ont été caractérisés par:

- Spectroscopie Infrarouge à transformée de Fourier FTIR, et titrages potentiométrique et conductimétrique pour la détermination du degré de désacétylation (DDA).
- Viscosimétrie (mesure de l'écoulement) pour la détermination de la masse moléculaire (MM).

La 3^{ème} étape a été consacrée pour tester le caractère de biofloculant des biopolymères préparés dans cette étude (chitosanes A et B) à différentes concentrations, sur un effluent issu de la station d'épuration ONA (Office Nationale d'Assainissement, Tizi-Ouzou). La réduction de la matière en suspension (MES), traduit par la mesure de la turbidité, a été suivie durant toute la durée du traitement. A la fin de l'opération, les mesures de la DCO et du pH sur l'effluent traité ont été effectuées. Une comparaison des résultats obtenus aux normes a été établie.

IV.2. Matériel, produits et méthodes expérimentales:

IV.2.1. Matériel et produits:

Les matériels et les produits utilisés durant cette étude sont résumés ci-dessous:

- Chitine A commerciale (Fluka) purifiée par voie chimique et extraite des déchets de crabes et de crevettes et chitine B biologique purifiée par voie fermentaire et extraite de la carapace des crevettes blanches pêchées sur le littoral algérien (**Arbia.L , 2010**).
- Effluent X l'eau usée récupérer a l'ONA.
- Turbidimètre HANA instrument; LP 2000 (Turbidity Meter).
- pH-mètre HANA (portable).
- Conductimètre WTW (Cond 1970i).
- Spectrophotomètre FTIR ; Shimadzu,(M8400 dans la plage de 400-4000 cm^{-1} sur du KBr (UMM, TO).
- Agitateur magnétique (MR 3001 K).
- Bloc chauffant Heidolph (CR 2200).
- Jar-test (FP4 portable Flocculateur).
- DCO-mètre SECOMAM.
- Etuve MEMMET.
- L'hydroxyle de sodium NaOH (99-100%) Reidel-de Haen.
- L'acide chlorydrique HCl (35-37%) BIOCHEM, chemopharma.
- L'acide acétique CH_3COOH (99-100%) BIOCHEM, chemopharma.

IV.2.2. Méthodes expérimentales

IV.2.2.1. Désacétylation chimique des chitines et préparation des chitosanes

La désacétylation chimique homogène est influencée par trois paramètres principaux et qui sont: la teneur en NaOH; la température et la durée de traitement. On jouant sur ces paramètres, on peut obtenir des chitosanes à différents degré de désacétylation (**Grégorio .C et al, 2009**).

Dans le but d'obtenir un chitosane de bonne qualité (caractérisé par un DDA élevé), nous avons procédé comme suit:

Une désacétylation de 3g de chitine A ou B dans 150ml de NaOH à 40% (à raison de 1g de chitine/ 50ml de NaOH (**Zemmouri, 2008**). Afin de minimiser au maximum la dégradation des chaînes de polymères, obtenir une désacétylation régulière le long de ces chaînes (**Babak et al., 1999**), et aussi pour réduire les impacts environnementaux en minimisant la pollution ainsi que la consommation de l'énergie, nous avons, en plus, procédé:

- à une température ambiante;
- sans agitation;
- à une durée de désacétylation longue de 33 jours choisis.

Après filtration, le résidu obtenu est d'abord lavé, plusieurs fois, à l'eau distillée jusqu'à élimination de toute trace de NaOH (obtention d'un pH neutre) puis séché à l'étuve pendant 6h à 60°C.

IV.2.2.2. Caractérisation des chitosanes.

IV.2.2.2.1. Test de solubilité des chitines désacétylées

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 (**Grégorio .C 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 avec certitude que les produits préparés sont des chitosanes (**Austin, 1984**)

Dans cette étude, 1g de chitosanes A ou B a été solubilisé en 1^{er} lieu dans 100ml d'acide acétique à 1% (1^{er} solvant) et dans 10ml de HCl à 0,1N (2^{ème} solvant).

IV.2.2.2.2. Déterminations du degré de désacétylation (DDA)

La technique la plus efficace pour déterminer le DDA du chitosane est la spectroscopie de masse couplée à la RMN au carbone-13. Elle permet une analyse avec une grande précision et n'exige pas d'utiliser des échantillons solubles. Cependant, elle nécessite des équipements coûteux et l'utilisation de produits ultra purs. Pour cela, nous avons opté pour des méthodes plus simples et rapides.

En général, une seule méthode, analytique ou spectroscopique, n'est pas suffisante pour caractériser les biopolymères, chitine et chitosane (**Yu et al, 1999**). Dans cette étude, trois méthodes ont été utilisées

- Spectroscopie FTIR: c'est une méthode qualitative plus que quantitative, les spectres qu'on obtient mettent en évidence l'apparition ou la disparition de certains pics caractéristiques à un groupement fonctionnelle (**Khan et al, 2000**). , dans le cas de la chitine c'est le groupement acétamide ($-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}_3$), et pour le chitosane c'est la fonction amine, l'intensité des pics est proportionnelle au degré de désacétylation.

Vu la propriété de solubilisation du chitosane en milieu acide aqueux, on utilise d'autres méthodes plus simples et qui sont les dosages conductimétrique et pH-métrique (**Broussignac, 1968; Sannan et al., 1978**).

- Dosage conductimétrique basique et dosage pH-métrique: c'est des méthodes purement quantitatives car elles sont basées sur la variation de la conductivité ou du pH grâce à la neutralisation des groupements NH_3^+ obtenus après solubilisation des chitosanes dans de l'acide dilué (protonation des groupements NH_2) par une base forte dilué.

IV.2.2.2.2.1 Caractérisation par FTIR

Les spectres infrarouges ont été obtenus en effectuant un balayage des échantillons des chitosanes et des chitines, dans la gamme de $400-4000\text{cm}^{-1}$, préparés sous forme de pastilles de KBr (1 mg chitosane A ou B (chitine)/100 mg KBr). Avant l'analyse spectroscopique, les échantillons ont été portés dans l'étuve à 40°C pendant 4 heures.

IV.2.2.2.2.2 Caractérisation par dosage conductimétrique (Yu et al. 1999)

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.

La détermination de DDA des chitosanes a été effectuée par dosage conductimétrique basique (**Yu et al., 1999**) qui comporte les étapes suivantes:

- ✓ Solubilisation de 150 mg de chitosane A ou B dans 10 ml de HCl à 0,1 N;
- ✓ Ajustement du volume de la solution à 200 ml avec de l'eau distillée (de préférence de l'eau déminéralisée);
- ✓ Titrage de la solution de chitosanes A ou B, sous agitation (250tpm), avec une solution de NaOH à 0,1 N;
- ✓ Mesure de la conductivité de la solution après chaque ajout de 0,5 ml de NaOH.

IV.2.2.2.3 Caractérisation par dosage pH-métrique (**Tolaimate et al., 1999**)

La détermination du DDA par dosage pH-métrique s'effectue selon la méthode de Broussignac (1968) et Muzzarelli (1977) (**Tolaimate et al., 1999**). Le dosage pH-métrique se déroule selon les étapes suivantes:

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

IV.2.2.2.3. Détermination de la masse moléculaire par viscosimétrie

Parmi les différentes méthodes décrites dans la littérature, la chromatographie par perméation du gel est la plus couramment utilisée pour la détermination du poids moléculaire du chitosane (**Yomota, 1993; Berth et al., 2002**), mais la viscosimétrie demeure une méthode simple et rapide (**Felt et al., 1999**).

L'étude de la viscosité des solutions macromoléculaires est une méthode empirique très utile pour la détermination des poids moléculaires des polymères linéaires. Les perturbations produites dans l'écoulement d'un fluide par la présence de grandes molécules dissoutes se traduisent par une augmentation de la viscosité du système (**Prud'homme, 1981**).

En pratique, on détermine la viscosité des solutions macromoléculaires en comparant le temps d'écoulement (t) d'un volume donné de la solution à travers un capillaire, au temps d'écoulement (t_0) d'un volume égal de solvant pur.

On appelle viscosité relative (η_r), le rapport entre la viscosité de la solution (η) et celle du solvant pur (η_0). Pour des solutions suffisamment diluées, la densité de la solution est très voisine de celle du solvant pur et la viscosité relative est exprimée par le rapport t/t_0

(Prud'homme, 1981). L'accroissement relatif de la viscosité, appelé viscosité spécifique (η_{sp}) (adimensionnelle) s'écrit comme suit :

$$\eta_{sp} = \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0} = \frac{t}{t_0} - 1 \quad (1)$$

Pour des solutions extrêmement diluées (où les molécules de soluté sont indépendantes les unes des autres), la perturbation totale de l'écoulement est égale à la somme des perturbations causées par chacune des molécules prises isolément **(Prud'homme, 1981)**. La viscosité spécifique est ainsi directement proportionnelle à la concentration et on peut écrire l'expression suivante :

$$\lim_{c \rightarrow 0} \frac{\eta_{sp}}{c} = [\eta] \quad (2)$$

Où C représente la concentration (g.dl^{-1}) et $[\eta]$ la viscosité intrinsèque (en dl.g^{-1}), c'est une grandeur caractéristique de la taille et de la forme des molécules de soluté. Pour le calcul de la viscosité intrinsèque, on fait varier la concentration de la solution, on calcule la viscosité spécifique (équation (1)) ensuite on trace la viscosité réduite (équation (2)) en prenant une concentration C) en fonction de la concentration. La projection de la droite obtenue sur l'axe des ordonnées (concentration nulle) nous donne la viscosité intrinsèque (méthode de Huggins) **(Hackrnan, 1960)**. La même procédure a été faite pour la méthode de Kraerner **(Braconnot, 1811)** en définissant cette fois-ci la viscosité inhérente (équation (4)). **Huggins (Hackrnan, 1960)** et **Kraerner (Braconnot, 1811)** ont démontrés les relations empiriques suivantes

$$\eta_{rd} = \frac{\left(\frac{t}{t_0}\right) - 1}{c} = [\eta] + k'[\eta]^2 C \quad (3)$$

$$\eta_{inh} = \frac{\ln \eta_r}{c} = \frac{\ln \left(\frac{t}{t_0}\right)}{c} = [\eta] + k''[\eta]^2 C \quad (4)$$

k' et k'' sont des constantes à déterminer expérimentalement.

Mark-Houwink -Sakurada **(Rinaudo et al., 1993)** a établi pour la détermination de la MM des polymères la relation donnée dans l'équation (5) suivante:

$$\eta = k M^a \quad (5)$$

$[\eta]$: Viscosité intrinsèque

M : Masse moléculaire.

K et a: constantes à déterminer expérimentalement.

Pour déterminer la viscosité des deux chitosanes, on a suivi les étapes suivantes:

- Dissoudre 1g de chitosanes A ou B dans 100ml d'une solution d'acide acétique à 1% (solution mère).

- A partir de la solution mère, préparer quatre solutions diluées de chitosanes A ou B dans de l'acide acétique (1%) à des teneurs suivantes (g/dl) : $C_1 = 0,75$; $C_2 = 0,5$; $C_3 = 0,2$ et $C_4 = 0,1$.
- Verser le contenu de chaque solution dans une burette;
- Mesurer le temps d'écoulement du solvant (CH_3COOH) et de chacune des quatre solutions sur une distance de 25cm (chitosane A puis chitosane B).

IV.2.2.3. Test de coagulation-floculation

Nous avons prélevé, au niveau de la station d'épuration ONA (Office National de l'Assainissement) de Tizi-Ouzou, en juin 2011, un échantillon d'eaux usées qu'on nommera effluent X.

L'échantillon a été stocké, à température ambiante, dans le laboratoire pendant plusieurs jours. Avant les tests de coagulation, nous avons procédé à la détermination de la turbidité initiale, de la DCO initiale et du pH initial de notre effluent.

Dans cette étude, nous avons utilisé des chitosanes sous forme dispersées. Pour cela, nous avons procédé aux étapes suivantes:

- Préparation des solutions de chitosanes (solution mère): solubilisation de 100mg de chitosanes A ou B dans 1ml d'acide acétique à 99% (masse/masse) et 99ml d'eau distillée (de préférence eau déminéralisée) (**Zemmouri, 2008**). Des dilutions ont été effectuées afin de tester l'effet de la dose de chitosanes A ou B (exprimée par le volume de chitosane solubilisé sur le volume de l'effluent) sur l'efficacité du traitement. Les valeurs choisies sont: 0,2; 0,4; 0,6; 0,8, 2 et 10 mg/l.
- Avant ajout du chitosane A ou B, homogénéisation de la solution de volume de 500ml d'effluent sous une agitation de 200 tpm pendant 20mn. Elle accompagne la déstabilisation par collision des particules en suspension. La floculation de la suspension a été effectuée dans un jar test (floculateur) ayant quatre rampes.
- Pour chaque dose de coagulant A ou B introduit dans un floculateur (jar test), agitation sous 200 tpm pendant 3mn (coagulation) puis diminution à 40 tpm pendant 10mn (floculation);
- En absence de l'agitation, suivre la cinétique de la turbidité du mélange par prélèvement d'échantillon tout les 5mn jusqu'à la fin de la décantation (stabilisation de la turbidité).
- Mesure de la DCO et du pH à la fin des essais de décantation.

IV.2.2.3.1. Mesure de la turbidité

A la base, la turbidité se définit comme le manque de limpidité de l'eau. Elle est causée par la matière en suspension et la matière colloïdale (particule ionisée), de fines particules de matière organique et inorganique, le plancton et autres microorganismes. La turbidité est un paramètre largement utilisé à travers le monde pour décrire la qualité de l'eau (**Gauthier et al., 2003**). On sait que la majorité des toxines, tant minérales qu'organiques, sont absorbées en moyenne à 90% sur les matières en suspension et colloïdales, ce qui permet de bien comprendre l'importance de l'analyse systématique de ce paramètre (**Vilaginès, 2000**).

La turbidité est, en règle générale, déterminée à l'aide de la lumière diffuse à 90°, technique fixé par la norme EN iso 7027. Lors du passage du rayonnement optique à travers un système dispersé, la puissance de rayonnement est réduite, grâce aux particules dispersées, par transformation en d'autres formes d'énergie. Cet effet est appelé absorption. Le rapport de la puissance de rayonnement pénétrant dans la distance mesurée et celle en sortant donne la turbidité.

Dans ce travail, nous avons effectué des lectures à l'aide d'un turbidimètre LP2000. La gamme de mesure est comprise entre 0,1 et 2000 NTU (Nephelometric Turbidity Unit).

IV.2.2.3.2. Dosage de la DCO

La mesure de la DCO est réalisée selon la méthode normalisée NF T 90 101 (1988). La demande chimique en oxygène(DCO) est la mesure de la quantité de dioxygène O₂ provenant de la réduction du dichromate de potassium, nécessaire pour oxyder les matières oxydables dans des conditions opératoires définies selon la norme établie. Ces matières oxydables étant en très grande majorité des matières organiques biodégradables et non biodégradables, la DCO peut être considérée comme une mesure de la totalité des matières organiques contenues dans une eau. La consommation d'oxygène par l'échantillon à analyser provoque un changement de couleur dont l'absorbance est proportionnelle à la quantité de dichromate de potassium réduit et se mesure en équivalent d'oxygène. Sa détermination comprend deux étapes décrites dans l'annexe.

Cette partie présente les résultats expérimentaux obtenus au cours de cette étude, ainsi que les interprétations et discussions portant sur ces résultats.

V.1. Caractérisation des chitosanes.

V.1.1. Test de solubilisation

Le test de solubilité (tableau V.1) révèle que nous avons effectivement obtenu des chitosanes après traitement alcalin (désacétylation aléatoire) (**Harish et al; 2002**) des deux chitines préparées par voie chimique et par voie biologique. Ce test rapide et simple prouve qu'il y a eu désacétylation des deux chitines.

Tableau V.1: Teste de solubilité du chitosane A et chitosane B.

Solvants	Chitosane A	Chitosane B
Acide chlorhydrique 0.1M	Soluble	Soluble
Acide acétique 1%	Soluble	Soluble
H ₂ O	Insoluble	Insoluble

V.1.2. Détermination du DDA des chitosanes

V.1.2.1. Caractérisation des chitines et des chitosanes par spectroscopie infrarouge (FTIR)

- Les spectres obtenus par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier pour les chitines et pour les chitosanes sont présentés sur les figures V.1 (A) et V.2 (B). L'exploitation de ces spectres a permis d'identifier les principales bandes rassemblées dans le tableau V.2.

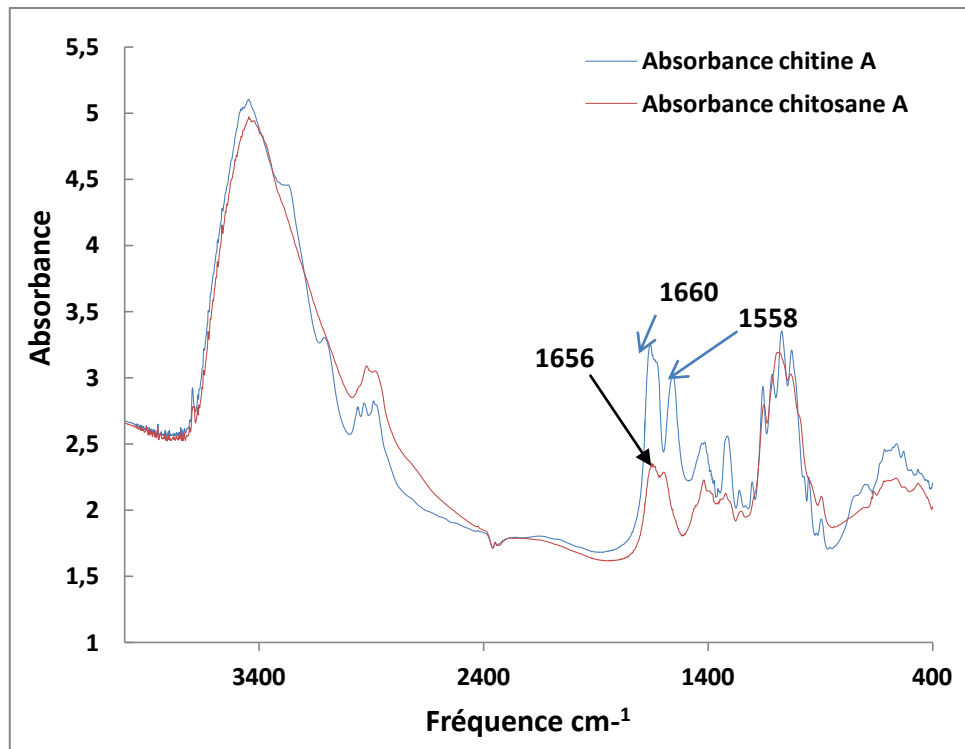


Figure V.1: Spectre FTIR de la chitine A et du chitosane A

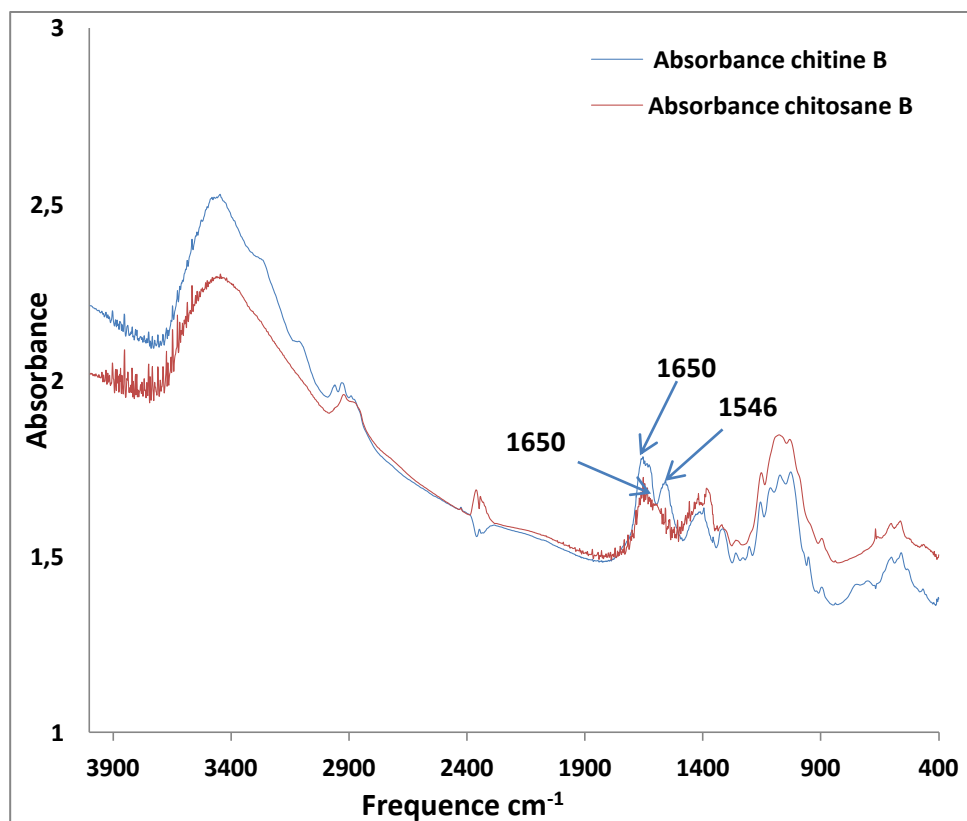


Figure V.2: Spectre FTIR de la chitine B et du chitosane B.

Tableau V.2: Principales bandes des spectres FTIR des chitines et des chitosanes.

Bandes (cm^{-1})	Nature de vibration ou de rotation
500-900	Région sensible à la structure
1028	Vibration d'élongation C-O-C du cycle glucosidique
1089	Vibration d'élongation du -OH
895 et 1153	Liaison glucosidique β (1 $\rightarrow$ 4)
1254	Vibration de distorsion de -O-H
1423	Déformation symétrique de -CH ₃ et -CH ₂
1548	Amide II
1660	Amide I
1320	Amide III
523, 741 et 1660	Pics se trouvant dans la chitine seulement
2880 et 2902	Elongation de -CH et -CH ₂
3099	Liaison d'hydrogène intermoléculaire (C) ₍₂₎ -NH...O=C ₍₇₎
3246	Liaison d'hydrogène intermoléculaire (C) ₍₆₎ OH...OH-C ₍₆₎
3100-3500	Elongation de -NH et -OH, incluant les liaisons d'hydrogènes.

Chez la chitine et le chitosane, la fréquence des régions carbonyle C=O des amides I et II située entre 1600 et 1500 cm^{-1} est de grande importance (**Rinaudo, 2006**). La bande de l'amide I se trouve à 1660 cm^{-1} pour la chitine A et à 1650 cm^{-1} pour la chitine B. Ces deux pics sont toujours présents dans les chitosanes préparés, ils sont dû aux liaisons hydrogènes entre les groupements C=O et les groupements N-H des chaines voisines (**Cérdenas, et al., 2004**).

La bande de l'amide II se trouve à 1558 cm^{-1} pour la chitine A et à 1546 cm^{-1} pour la chitine B. Après désacétylation, ces pics disparaissent dans les chitosanes A et B, ce qui signifie que la bande de l'amide II est caractéristique de la chitine, ce résultat est en accord avec celui de **Cérdenas et al., (2004)**.

- Le DDA des chitosanes a été déterminé en utilisant la formule suivante (**Brugnerotto et al., 2001a**) :

$$DDA=100-(((A_{1320}/A_{1420})-0,3822)/0,03233) \quad (R^2=0,99) \quad (5)$$

La bande d'absorption à 1320 cm^{-1} a été considéré comme contribution de l'amide III (Qin and al., 2006). Brugnerotto et al. (2001a) ont déterminé le DDA en utilisant le ratio de A_{1320}/A_{1420} . La corrélation entre les valeurs expérimentales de DDA et le ratio a été exprimée par l'équation 5.

Brugnerotto et al. (2001a, 2001b) ont signalé que le DDA déterminé à partir du ratio de A_{1320}/A_{1420} se rapproche avec le DDA déterminée 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 et 1420 cm^{-1} n'ont pas changé avec l'humidité et les liaisons hydrogène.

Les résultats du calcul du degré de désacétylation des chitosanes par FTIR sont présentés dans le tableau V.3.

Tableau V.3 : Pourcentages de DDA obtenus par spectroscopie Infrarouge.

Echantillons	Chitosane A	Chitosane B
DDA (%)	83,11	83,16

V.1.2.2. Détermination du degré de désacétylation des chitosanes A et B par dosage conductimétrique

Le choix de la conductimétrie basique pour le calcul du DDA nécessite une étape préliminaire de la solubilisation des chitosanes avec de l'acide chlorhydrique.

La mesure de la variation de la conductivité de la solution de chitosane a permis de tracer les courbes présentées dans les figures V.3 et V.4. Ces courbes démarrant de la conductivité initiale correspondante à celle des ions présents dans la solution (H_3O^+ et R-NH_3^+), manifestent trois régions avec apparition de deux points d'inflexion aux volumes V_1 et V_2 :

- Région 1: on a une diminution rapide de la conductivité jusqu'au volume V_1 , elle est due à la neutralisation des ions H_3O^+ provenant de l'acide chlorhydrique restant (après solubilisation) par la base forte (formation de molécules d'eau).
- Région 2: on remarque un pseudo-équilibre jusqu'au volume V_2 malgré l'ajout de quantités importantes de NaOH. Cette région correspond au passage de la forme ionique NH_3^+ des chitosanes vers la forme neutre NH_2 .
- Région 3: une augmentation rapide de la conductivité grâce à la présence des ions OH^- provenant du NaOH ajouté.

Le calcul du DDA, selon cette méthode, se fait selon la formule suivante:

$$\text{DDA} = \frac{203 \cdot (V_2 - V_1) \cdot N}{m + 42 \cdot (V_2 - V_1) \cdot N} \cdot 100\% \quad (6)$$

N: normalité de la solution de NaOH (mole/l) ;

V_2 et V_1 : volumes équivalents de NaOH comme présentés dans les figures V.3 et V.4 ;

M: masse du chitosane (g) ;

203: masse moléculaire du monomère acétylé (g/mole);

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

Dans cette équation (6), la différence des volumes de NaOH ($V_2 - V_1$) correspond à la quantité de HCl nécessaire pour dissoudre le chitosane, c'est-à-dire pour transformer les groupements $-\text{NH}_2$ en $-\text{NH}_3^+$.

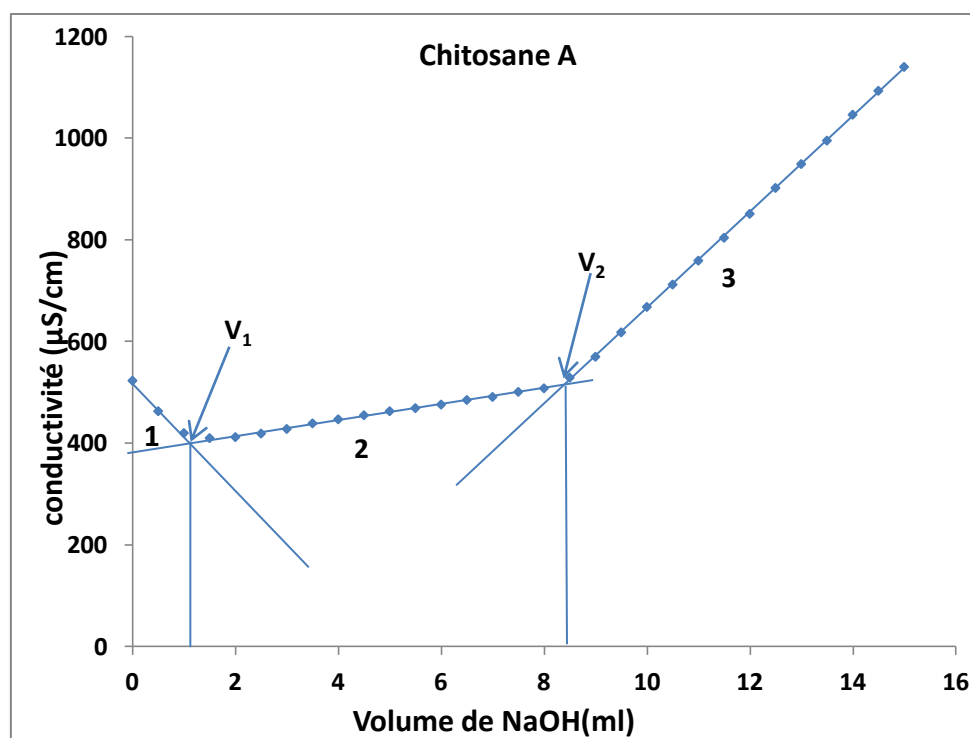


Figure V.3: Dosage conductimétrique basique du chitosane A,
 m (Chitosane)=0,15g ; $C(\text{HCl})=0,1\text{N}$; $C(\text{NaOH})=0,1\text{N}$.

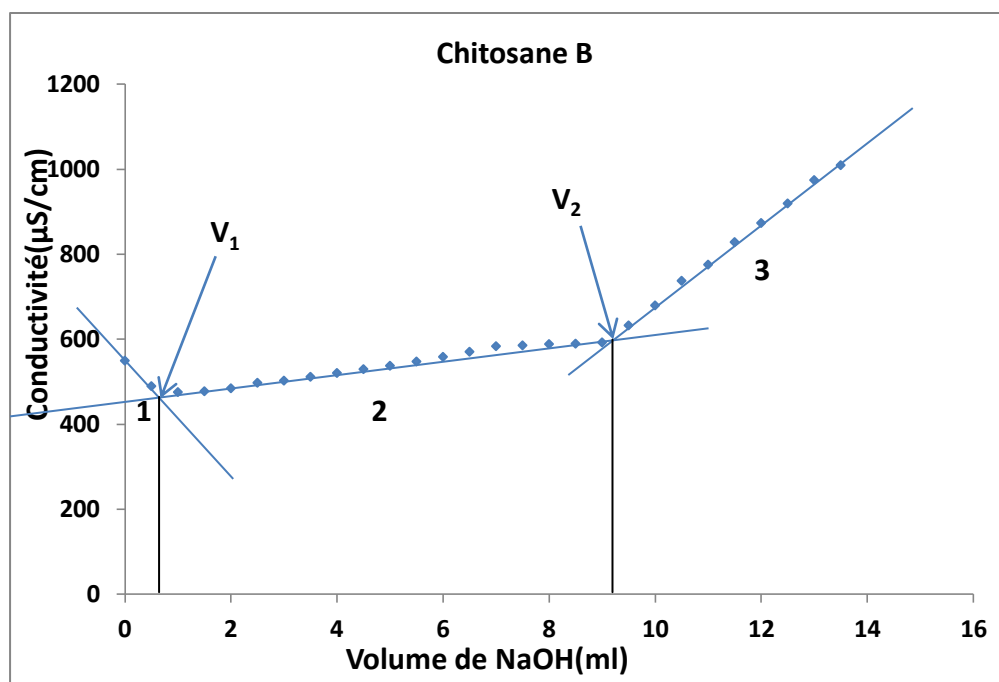


Figure V.4: Dosage conductimétrique basique du chitosane B
 $m(\text{chitosane})=0,15\text{g}$; $C(\text{HCl})=0,1\text{N}$; $C(\text{NaOH})=0,1\text{N}$.

Les résultats du calcul de degré de désacétylation par dosage conductimétrique sont présentés au tableau V.4.

Tableau V.4: Pourcentage du DDA obtenu par dosage conductimétrique.

Echantillon	Chitosane A	Chitosane B
DDA (%)	83.15	94.68

V.1.2.3. Détermination du degré de désacétylation des chitosanes par dosage pH-métrique

Les courbes potentiométriques des dosages des chitosanes et de l'acide chlorhydrique utilisé pour sa dissolution sont représentées dans les figures V.5 et V.7.

Comme pour le dosage conductimétrique basique, ces courbes présentent deux points d'inflexion. Ces points sont facilement identifiables dans les figures V.6 et V.8 qui correspondent à la variation de la deuxième dérivée. Dans ce dernier cas, la courbe rencontre l'axe V en deux points V₁ et V₂. La différence de volume de NaOH entre ces deux points correspond à la quantité d'acide chlorhydrique nécessaire pour protoner les groupements amines du chitosane.

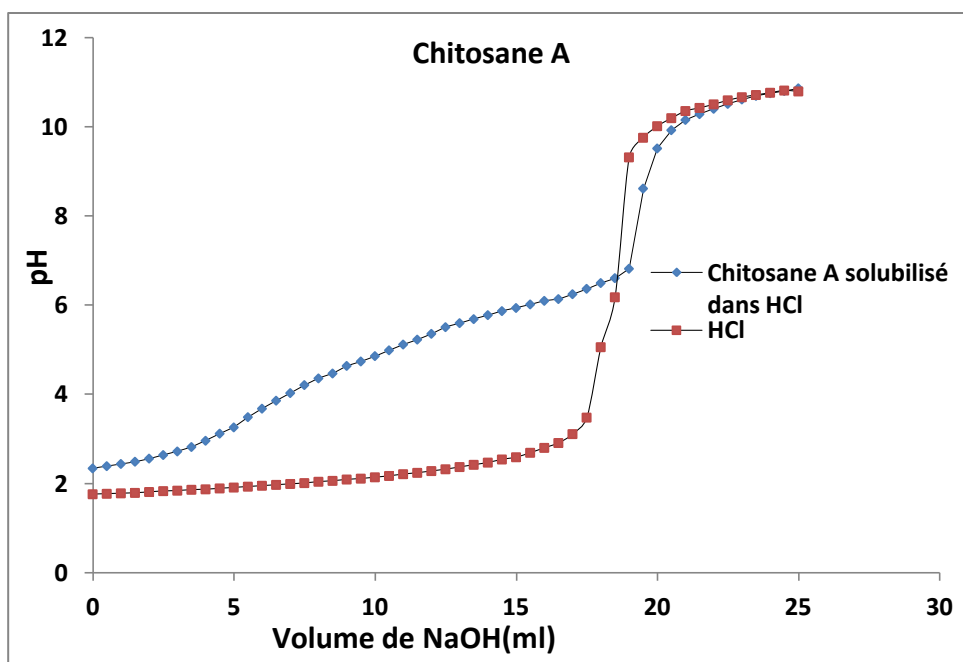


Figure V.5 : Dosage pH-métrique du chitosane A, m (chitosane) = 0,135g ; C(NaOH)=0,05N ; C (HCl) = 0,1 N.

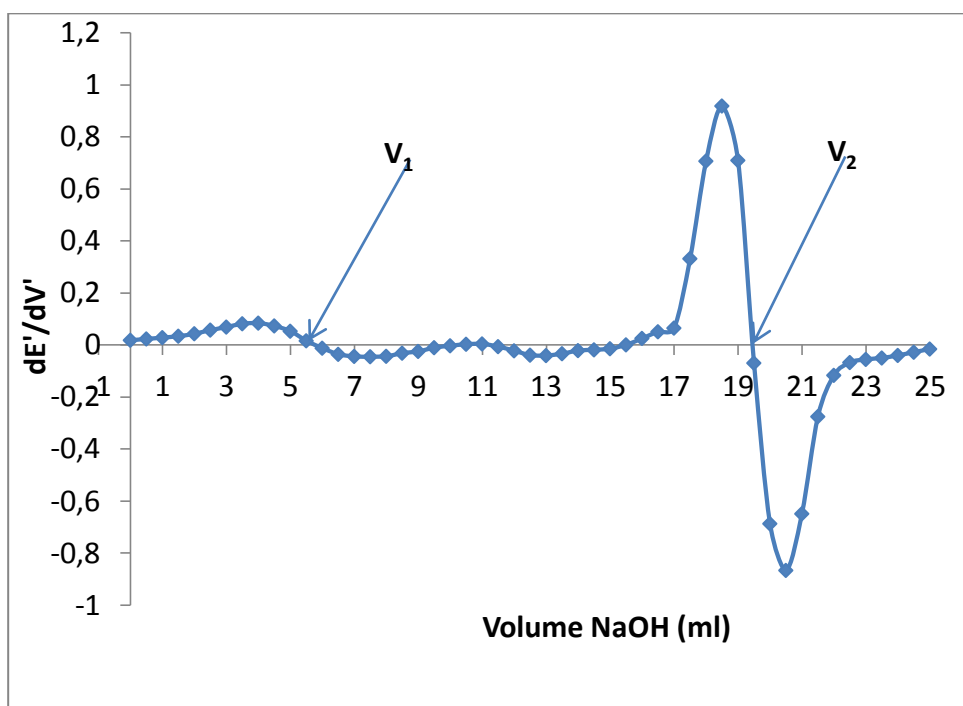


Figure V.6: Dérivée seconde du dosage pH-métrique du chitosane A, m (chitosane) = 0,135g ; C (NaOH) = 0, 05 N ; C (HCl) = 0, 1 N.

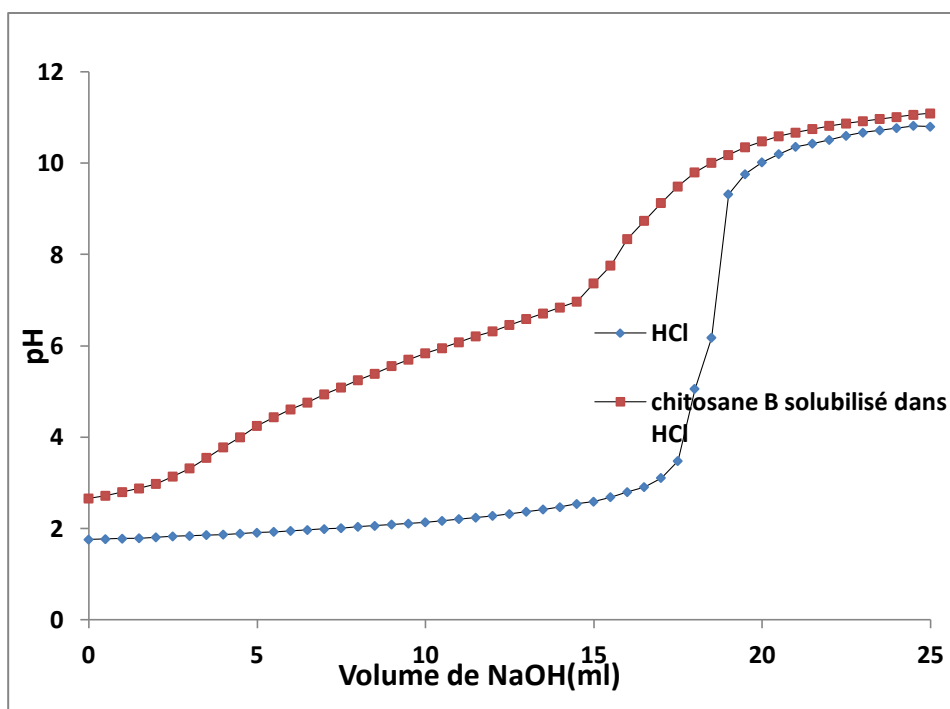


Figure V.7 : Dosage pH-métrique du chitosane B, $m(\text{chitosane}) = 0,135\text{g}$; $C(\text{NaOH}) 0,05\text{ N}$; $C(\text{HCl}) = 0,1\text{ N}$.

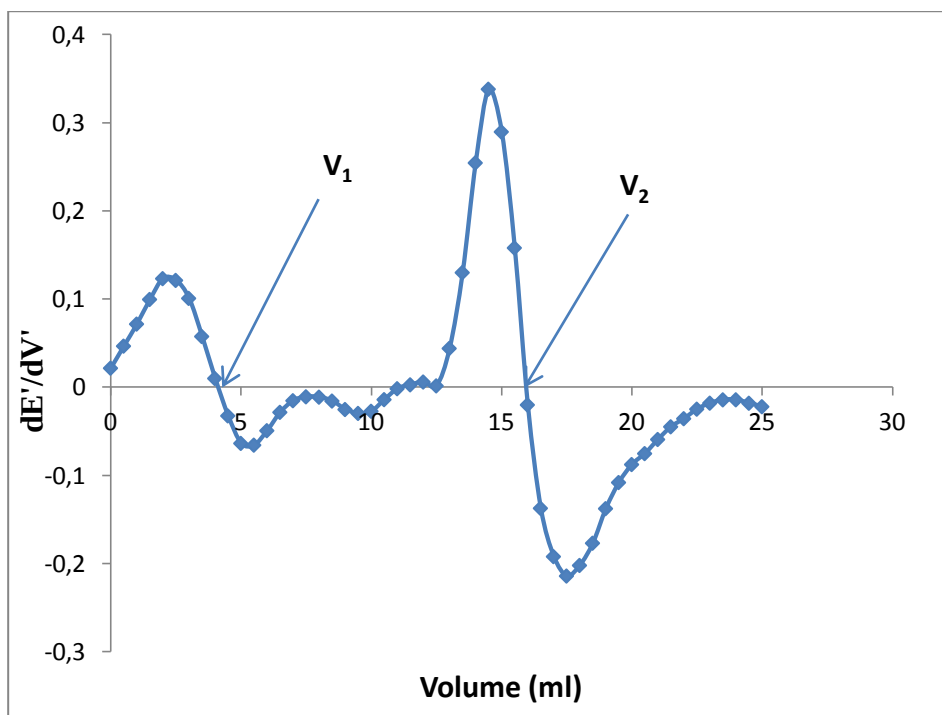


Figure V.8 : Dérivée seconde $\partial^2\text{pH}/\partial V^2$ du dosage pH-métrique chitosane B, $m(\text{chitosane}) = 0,135\text{ g}$; $C(\text{NaOH}) = 0,05\text{ N}$; $C(\text{HCl}) = 0,1\text{ N}$.

L'équation utilisée pour le calcul du DDA des chitosanes est la même que celle utilisée dans le dosage conductimétrique (équation 6).

Les résultats de calcul du degré de désacétylation par dosage pH-métrique sont présentés dans le tableau V.5.

Tableau V.5: Pourcentages du DDA obtenus par méthode pH-métrique.

Echantillon	Chitosane A	Chitosane B
DDA (%)	85,32	75,50

On remarque qu'avec les trois méthodes et pour les deux chitines A et B utilisées pour préparer les chitosanes, on obtient un degré de désacétylation qui dépasse les 70%, de ce fait on peut dire qu'on a obtenu des chitosanes A et B ayant des DDA comparables au chitosane commercial Sigma-Aldrich : C3646-256 avec une viscosité de 100Pa.s (DDA>75%) et avec une viscosité de Brookfeild de 200 000cps (DDA>55%) et aux chitosanes préparés par voie chimique (DDA>77%): par désacétylation dans NaOH à 50%, température 140°C durée 1h (DDA>77%) (**Salah, 2005**) ; par désacétylation dans NaOH à 50%, cette étape a été répétée deux fois pour une durée de 3h chacune, température 100°C (DDA>86%) (**Elias. A, 2006**) ; désacétylation partielle dans NaOH à 50% à température ambiante pendant 48h (>35%) (**Kedou. M. A, 2008**).

Les chitosanes préparés dans ce travail, peuvent avoir une bonne capacité de coagulation-floculation grâce à la présence de nombreux groupements amines chargés positivement ($-\text{NH}_3^+$) en milieu acide dilué qui vont déstabiliser les particules colloïdales, chargées négativement. Cette étude a fait l'objet du chapitre V.2.

V.1.3. Détermination de la masse moléculaire des chitosanes par viscosimétrie.

La méthode qu'on a choisi pour la détermination de la MM (équation (5)) nécessite la connaissance de la viscosité intrinsèque $[\eta]$ des polymères ainsi que les paramètres k et a . Les valeurs prises par ces derniers dépendent de la nature du solvant, de sa concentration et de la température (**Kasaai .M.R, 2007**). Dans notre cas, pour le solvant utilisé CH_3COOH à 1% et une température de 30°C : $a=0.72$ (sans dimension); $k=4.74 \cdot 10^{-5}(\text{dl.g}^{-1})$ (**Rao, 1993**).

Pour le calcul de la viscosité $[\eta]$, il est avantageux de porter sur un même graphique les viscosités réduite (η_{red}/C) et inhérente ($\ln \eta_{\text{inh}}/C$) en fonction de la concentration C de façon à obtenir une meilleure évaluation de l'ordonnée à l'origine $[\eta]$ normalement commune aux deux courbes (Figures V.9 et V.10).

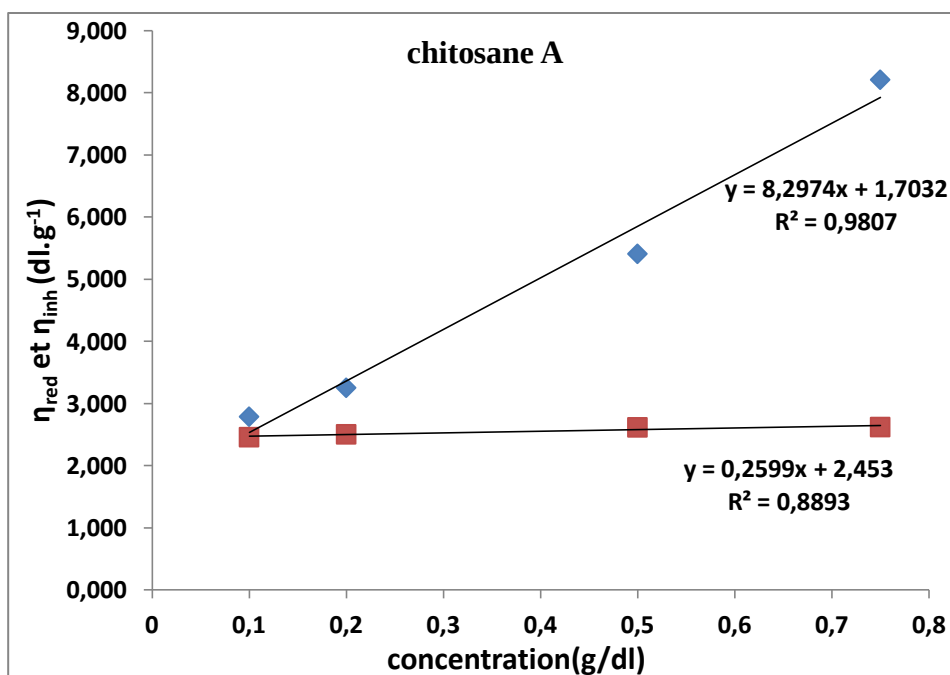


Figure V.9 : Détermination de la viscosité intrinsèque du chitosane A

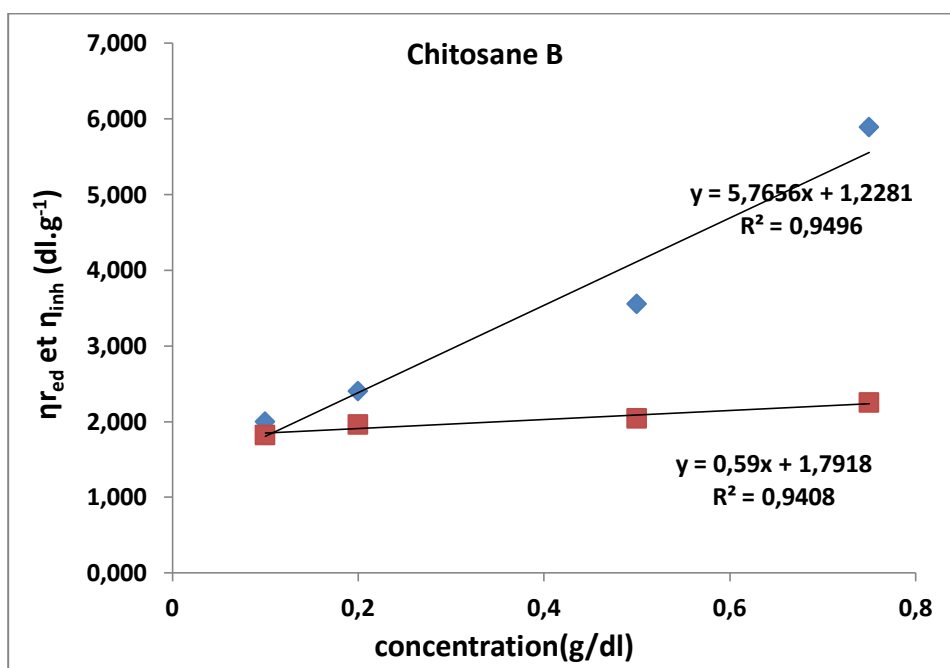


Figure.10: Détermination de la viscosité intrinsèque du chitosane B.

Pour le chitosane A obtenu à partir de la chitine préparée par la méthode chimique, on obtient une viscosité intrinsèque $[\eta]$ de: 1,7032 dl.g⁻¹ par Huggins (équation (4)) et 2,453dl.g⁻¹ par Kraerner (équation (5)). A partir de la viscosité intrinsèque moyenne, la masse moléculaire du chitosane A est de M=2799,4 kDa.

Pour le chitosane B obtenu à partir de la chitine préparée par la méthode biologique, on obtient une viscosité intrinsèque $[\eta]$ de: 1,2281 dl.g⁻¹ par Huggins (équation (4)) et 1,791dl.g⁻¹

par Kraerner (équation (5)). A partir de la viscosité intrinsèque moyenne, la masse moléculaire du chitosane B est de $M=1796,5$ kDa. L'écart des valeurs obtenues de la viscosité intrinsèque est dû aux solutions de polymères préparées non suffisamment diluées (**Poirier. M, 2000**). En raison de la viscosité élevée des solutions testées, des difficultés dans leur préparation ont été rencontrées au laboratoire.

Les masses moléculaires trouvées dans ce travail sont élevées comparativement au chitosane commercial utilisé dans le traitement des eaux qui a une MM comprise entre 100 et 500KDa. Afin d'obtenir les masses moléculaires exactes des deux chitosanes, il sera plus judicieux de les recalculer en prenant des solutions de polymères à des concentrations très diluées (entre 0,01 et 0,05g/dl) (**Poirier. M, 2000**).

Durant les essais de mesure de la viscosité, nous avons observé que, pour une même concentration en chitosane, le temps d'écoulement du polymère A est plus important que celui du biopolymère B. Ceci se traduit par une viscosité de A plus élevée que celle de B et par conséquent la MM de A est supérieur à celle de B. Les raisons qui peuvent expliquer cette différence des MM des chitosanes sont:

- 1- la différence de la longueur des chaînes due au fait que ces polymères sont issus non seulement de sources de chitines différentes (les crevettes et les crabes pour A et les crevettes pêchées sur le littoral algérien pour B mais aussi des modes de préparation différentes.
- 2- la différence du degré de cristallinité des chitosanes sachant que plus un polymère est cristallin plus sa masse moléculaire est élevée c'est le cas de la chitine native.

V.2. Test de coagulation-floculation

V.2.1. Caractérisation de l'effluent d'eau usée avant traitement

Les résultats de la caractérisation de l'effluent X prélevé de l'ONA sont résumés dans le tableau V.7

Tableau V.7: Résultats de la caractérisation de l'échantillon d'effluent avant le traitement de coagulation-floculation.

Echantillon	Turbidité initiale (NTU)	DCO initial mg d'O ₂ /l	pH initial
Effluent X	200	5075	6,8

La valeur de la DCO est située entre 300-500mg d'O₂/l, au niveau de la station de prélèvement (ONA) qui reçoit des eaux urbaines provenant de la ville de Tizi-Ouzou. Ce

chiffre est loin de s'approcher de celui trouvé dans notre échantillon brut présenté sous forme de suspension ($5075 \text{ mg O}_2/\text{l}$), le stockage à température ambiante durant plusieurs jours a conduit à la fermentation des bactéries présentes dans le milieu riche en matières organiques avec une obtention d'un pH avoisinant la neutralité (6,8) et une turbidité de 200 NTU.

V.2.2. Etude de la cinétique et du taux d'abattement de la turbidité

La mesure de la turbidité est un indicateur principal de la qualité du traitement de coagulation-floculation. Dans cette partie nous avons effectué une optimisation de la teneur en coagulants (chitosanes A et B) comprise entre 0,2 et 10 mg/l (valeurs choisies dans cette étude). Afin de déterminer l'efficacité des coagulants préparés dans ce travail, nous avons suivi la cinétique de la turbidité du surnageant à différents temps et pour chaque concentration en polymères. Les résultats obtenus sont représentés dans les figures V.11 et V.12.

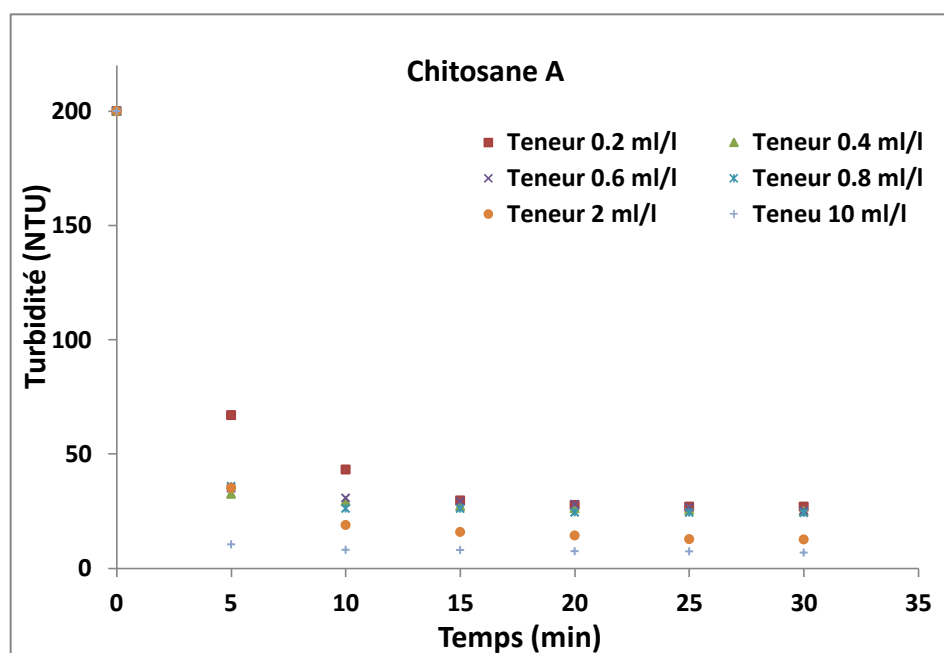


Figure V.11: La cinétique de la turbidité résiduelle à différentes concentrations en chitosane A. $\text{Turbidité}_{\text{initiale}} = 200 \text{ NTU}$; $\text{DCO}_{\text{initial}} = 5075 \text{ mg O}_2/\text{l}$; $\text{pH}_{\text{initial}} = 6,8$.

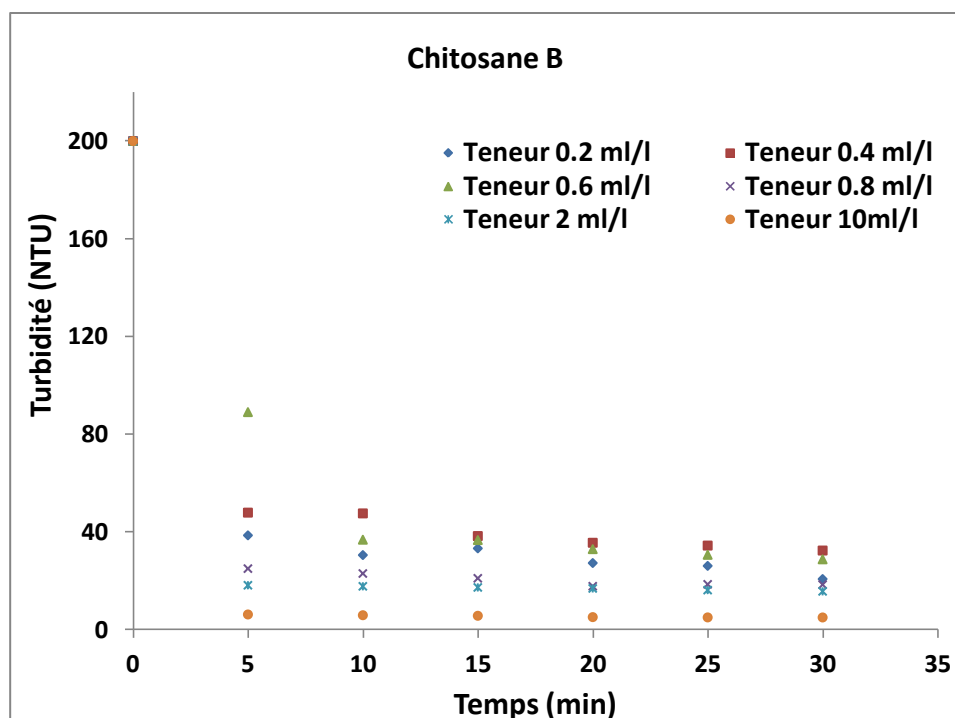


Figure V.12: La cinétique de la turbidité résiduelle à différentes concentrations en chitosane B. Turbidité_{initiale}=200 NTU; DCO_{initial}=5075mg O₂/l; pH_{initial}=6,8.

Pour les deux chitosanes, nous avons observé une diminution de la turbidité du surnageant en présence des coagulants et celle-ci est d'autant plus importante avec l'augmentation de leur teneur : pour le chitosane A, avec 10mg/l, la turbidité passe de 200 à 6,84NTU et avec 0,2mg/l, la turbidité passe de 200 à 29,95 NTU et pour le chitosane B, avec 10mg/l, la turbidité passe de 200 à 4,93NTU et avec 0,2mg/l, la turbidité passe de 200 à 20,66NTU. Cette diminution cesse au bout d'un certain temps pour atteindre un palier stable.

Pour mettre en évidence l'effet de la concentration des chitosanes, nous avons représenté le taux d'abattement en fonction de la concentration (Figure V.13).

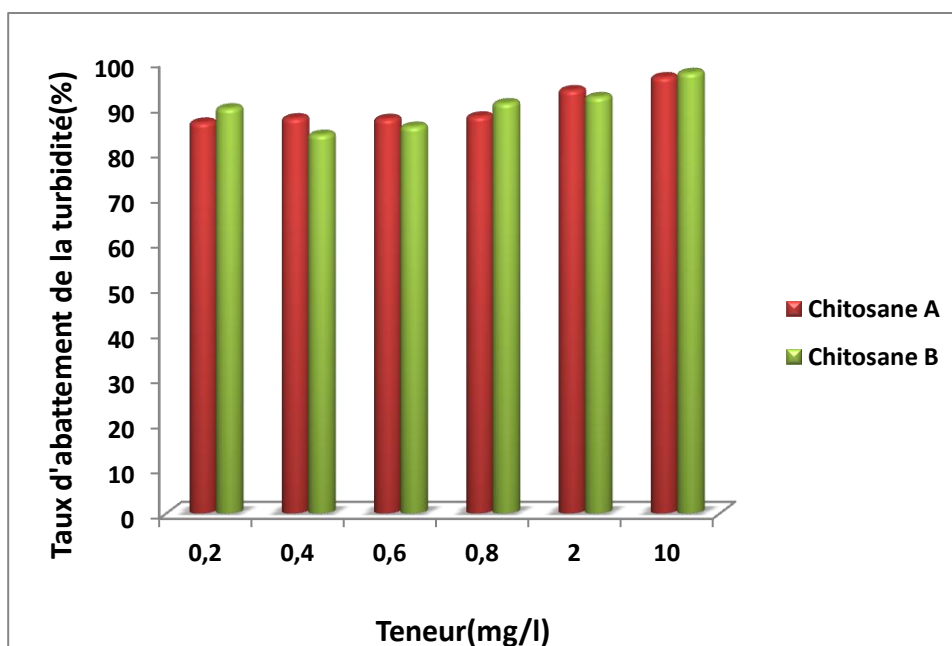


Figure V 13: Variation du taux d'abattement de la turbidité en fonction de la teneur en chitosane A et B. Turbidité $_{initiale}$ =200 NTU, DCO $_{initial}$ =5075mg O₂/l, pH=6,8.

D'après l'histogramme, on remarque que pour les différentes teneurs en chitosane A ou B, le taux d'abattement de la turbidité dépasse les 80%.

En conclusion, nous pouvons dire que la gamme de concentration utilisée (0,2-10mg/l) est très intéressante et pas trop élevée pour provoquer l'auto-coagulation des chitosanes puisqu'il n'y a pas eu de retour à la stabilisation des matières colloïdales traduit par l'augmentation de la turbidité. Les deux chitosanes semblent présenter des comportements de biofloculation différents après 5mn de traitement et ce pour toutes les doses utilisées.

V.2.3. Caractérisation de l'effluent X d'eau usée après le traitement de coagulation-floculation.

Les résultats obtenus pour le pH final sont mentionnés dans les tableaux V.8 et V.9.

➤ Chitosane A

Tableau V.8: valeurs du pH obtenu à la fin de la décantation pour différentes teneurs en coagulant (Chitosane A)

concentration du chitosane (mg/l)	pH $_{final}$
0,2	7,6
0,4	7,56
0,6	7,53
0,8	7,32
2	6,93

10	6,97
----	------

➤ **Chitosane B**

Tableau V.9: Valeurs du pH à la fin de la décantation pour différents teneurs en coagulant (Chitosane B)

concentration du chitosane (mg/l)	pH _{final}
0,2	7,23
0,4	6,91
0,6	6,77
0,8	7,13
2	7,15
10	6,6

La neutralité du pH des eaux traitées aux chitosanes à la fin du traitement autorise leurs rejets à l'environnement ou leurs réutilisations.

V.2.4. Etude du taux d'abattement de la DCO.

Le calcul du taux d'abattement de la DCO a permis de tracer pour les deux chitosanes les histogrammes représentés sur la figure V.14

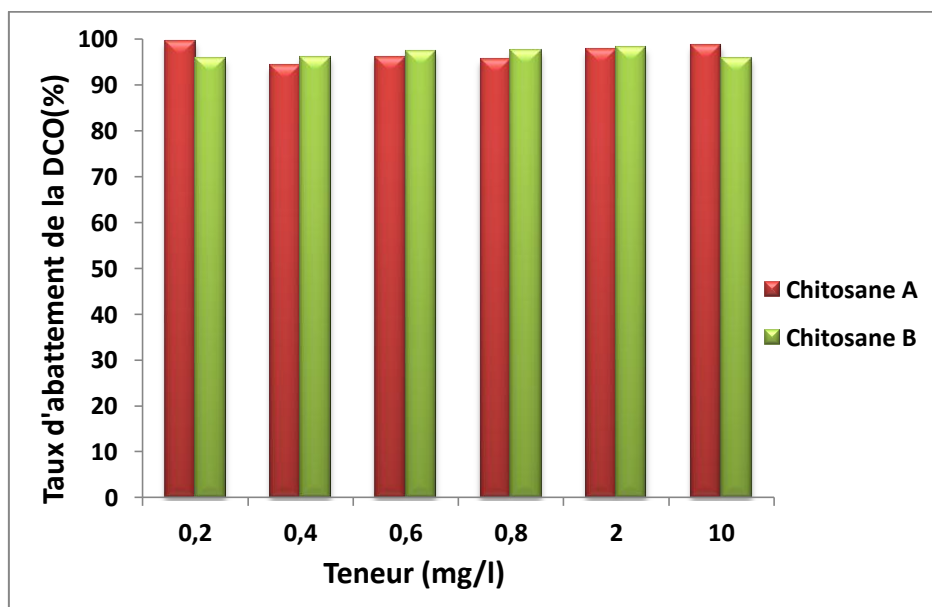


Figure V.14: Variation du taux d'abattement de la DCO en fonction de la teneur en chitosane A et B. Turbidité_{initiale}=200 NTU, DCO_{initial}=5075mg O₂/l, pH=6,8.

Pour différents teneurs en coagulants A et B, nous avons obtenu un taux d'abattement de la DCO qui dépasse les 90%, ce taux élevé d'enlèvement de DCO s'explique par l'adsorption des matières en suspensions sur les gros floccs former après coagulation. On peut dire que ce traitement utilisant soit le chitosane A, soit le chitosane B est efficace puisqu'il atteint le

même taux désiré par la station d'épuration de l'ONA avec un procédé biologique (bassin biologique).

Conclusion générale

L'objectif fixé dans cette étude a été atteint. En effet, les essais expérimentaux effectués ont permis d'obtenir deux chitosanes, issus de deux chitines préparés par deux voies différentes, caractérisés par un degré de désacétylation (DDA) acceptable dépassant les 80%. Ce résultat a été confirmé par les trois méthodes différentes à savoir: la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier, le dosage conductimétrique basique et le dosage pH-métrique.

Ensuite, grâce à la solubilité des deux chitosanes dans de l'acide acétique à 1%, nous avons pu déterminer la masse moléculaire (MM) par viscosimétrie, celle-ci est de l'ordre de 2799.4 kDa pour le chitosane A et de l'ordre de 1796.5 kDa pour le chitosane B. Ces valeurs élevées, comparativement au chitosane utilisé dans le traitement des eaux usées (100-500 kDa), indiquent que les chaînes des biopolymères préparés sont assez longues puisque la désacétylation a été faite à température ambiante et pendant 33 jours, ce qui prouve qu'elles n'ont pas été dégradées.

Dans l'intervalle 0,2-10 ml/l (volume de la solution du chitosane/volume d'effluent), les chitosanes A et B ont montré leur efficacité de biofloculants dans les processus de l'élimination de la turbidité et de bon agent coagulant pour les processus d'enlèvements de la DCO des eaux urbaines fortement chargées (turbidité de 200 NTU; DCO de 5075mgO₂/l). Les taux d'abattement atteignent environ 80% en turbidité et plus de 90% en DCO.

En perspective, il serait intéressant:

- 1- D'orienter l'utilisation des deux chitosanes obtenus par désacétylation à température ambiante et caractérisées par des masses moléculaires élevées vers d'autres domaines tels que la médecine, le cosmétique, la pharmacie et l'agro-alimentaire;
- 2- Effectuer la cinétique de désacétylation alcaline à température ambiante, pour les deux chitosanes.
- 3- De préparer, à température ambiante, des chitosanes à différents DDA et MM en jouant sur la durée de traitement (réaliser des cinétiques de désacétylation chimique);
- 4- De tester l'efficacité des biofloculants A et B sur des échantillons à différentes valeurs de la turbidité;
- 5- De tester l'efficacité des biofloculants dans le traitement des eaux de surface destinées à la potabilisation.

Références bibliographiques

- **Arbia Wassila**, (2007). Intitulé du mémoire : production de la chitine par voie fermentaire à partir d'une biomasse marine ENP.
- **Arbia leila**, (2010). Contribution à l'étude de déminéralisation et la déprotéinisation de la carapace des crustacés par voie fermentaire ENP.
- **Aiba, S.-I.**, (1991). "Studies on chitosan: 3. Evidence for the presence of random and block copolymer structures in partially N-acetylated chitosans". *International Journal of Biological Macromolecules*, 13, 40-44.
- **Allache F.**, (2005). Activité biologique d'un dérégulateur de croissance des insectes: l'hexaflumuron sur la cuticule des larves rinde Locusta Migratie. Thèse de Magister. L'Institut National Agronomique, El-Harrach.
- **Al-Mutairi, N.Z.** (2005) Coagulant toxicity and effectiveness in a slaughterhouse wastewater treatment plant. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. In Press, Corrected Proof.
- **Aiba S** (1991). *Int J Biol Macromol* 13 40.
- **Austin PR** (1984). Chitin solvents and solubility parameters in: Chitin and Chitosan and related enzymes. Zikakis JP, ed. Orlando: Academic Press. 227.
- **Anthonsen**(1993) MW, Varum KM, Smidsrod O. *Carbohydr Polym* 22 193.
- **Atkins** (1985). EDT .*JBiosci* 8 375
- **Babak V, Lukina I, Vikhoreva. G, Desbrières J., Rinaudo M.** (1999). Interfacial properties of dynamic association between chitin derivatives and surfactants. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 147: 139-148.
- **Berth G, Dautzenberg H** (2002). *Carbohydr Polym* 47 39.
- **Bratskaya, S. Y., V. A. Avramenko, S. V. Sukhoverkhov et S. Schwarz**, 2002. «Flocculation of Humic Substances and Their Derivatives with Chitosan». *Colloid Journal*, Vol. 64, p. 681-685.
- **Berth G., Dautzenberg H.**, (2002). *The degree of acetylation of chitosans and its effect on the chain conformation in aqueous solution*. *Carbohydrate Polymers*, 47: 39-51.
- **Braconnot .H** ,(2010). *Ann. Chim. (Paris)*, 79 (2010), (181 1) 265.

Références bibliographiques

- **Brugnerotto, J., Lizardi, J., Goyoolea, F.M., Arguëlles-Monal, W., Desbrières, J., & Rinaudo, M. (2001a).** An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. *Polymer*, 42, 3569–3580.
- **Brugnerotto, J., Lizardi, J., Goyoolea, F.M., Arguëlles-Monal, W., Desbrières, J., and Rinaudo, M. (2001a).** An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. *Polymer*, 42, 3569–3580.
- **Brugnerotto, J., Lizardi, J., Goyoolea, F.M., Arguëlles-Monal, W., Desbrières, J., (2001)** Chitin and chitosan characterization. *Polymer*, 42, 3569, 3580
- **Brine, C. J., and Austin, (1981).** Chitin variability with species and method of preparation. *Comparative Biochemistry and physiology*, 69B, , P.R. 283-286.
- **Benfield LD, Judkins JF, Weand BI., (1982)** process chemistry for Water and Wastewater treatment . Prentice-Hall: Englewood Cliffs 510.
- **Brugnerotto, J., Desbrières, J., Heux, L., Mazeau, K., & Rinaudo, M. (2001b).** Overview on structural characterization of chitosan molecules in relation with their behavior in solution. *Macromolecules symposium*, 168, 1–20.
- **Berth., H. Dautzenberg et M.G. Peter (1998).** Physico-chemical characterization of chitosan varying in degree of acetylation. *Carbohydrate Polymères*, 36 205-218.
- **Broussignac P (1969).** *Chim Ind Genie Chimica* 991241.
- **Bullock, G., V. Blazer, S. Tsukuda and S. Summerfelt (2000).** Toxicity of acidified chitosan for cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 185 (3-4): 273-280.
- **Broussignac, P. (1968)** «Haut Polymère Naturel Connus dans l'Industrie: Le Chitosane». *Chimie et Industrie-Génie Chimique*, vol. 99, p. 1241-1247.
- **Casey, T.J. (1997).** Unit Treatment Processes. Water and Wastewater Engineering. John Wiley & Sons. Chichester, England.
- **Chen, R. H. et M. L. Tsai. (1998).** Effect of temperatures on the intrinsic viscosity and conformation of chitosan in dilute HCl solution. *Int.J.Biol. Macromol.*, 23 (1998) 135-141.
- **Chatterjee S., M. Adhya, A.K. Guha et B.P. Chatterjee, (2005).** Chitosan from *Mucor rouxii*: Production and physico-chemical characterization. *Proc. Biochem.*, 40, 395-400.
- **Cérendas G, Cabrea G, Toboada E, Miranda SP. J Appl polym sci 93(2004) 1876.**

Références bibliographiques

- **Cira L. A., Huerta S., Hall G. M. and Shirai K.,** (2002). Pilot scale lactic acid fermentation of shrimp wastes for chitin recovery. *Proc. Biochem.*, 37, 1359-1366.
- **Domard A, Gey C, Rinaudo M, Terrasin C**(1987). *Int J Biol Macromol* 9 233;
- **Degrémont (2005)** Memento technique de l'eau. Degrémont. France.
- **Domard, A,** (1987). "pH and c.d. measurements on a fully deacetylated chitosan: application to Cu (II)-polymer interactions". *International Journal of Biological Macromolecules*, 9, 98-104.
- **Domard A, Rinaudo M.,**(1983). *Int J Biol Macromol* 549.
- **Darmon SE, Rudall KM** (1950). *Disc Faraday Soc* 9 251.
- **EPA – Environmental Protection Agency** (2000). Wastewater Technologie Fact Sheet, Chemical Precipitation, EPA 832-F-00-018, September 2000.
- **EPA – Environmental Protection Agency** (2000b) Biosolids Technology Fact Sheet: Belt Filter Press, EPA 832-F-00-057
- **Edeline F(1992).** l'épuration physico-chimique des eaux: théorie technologie. 2^{ème} éd, Paris Lavoisier 282.
- **Evonne Wai Yan and Vern Ru Lee,** 2002. Enzymatic hydrolysis of prawn shell waste for the purification of chitin. Department of Chemical Engineering Loughborough University.
- **ELIAS .A.** 2006. Etude du processus de coagulation-floculation du système montmorillonite-chitosane dans l'élimination de métaux de transition.
- **Focher B, Naggi A, Torri G, Cosani A, Terbojevich M.** *Carbohydr Polym* 17(1992) 97; Varum KM, Anthonsen NW, Grasdalen H, Smidsrod O. *Carbohydr Res* 211(1991) 17; Tanner SF, Chanzy H, Vincendon M, Roux JC, Gaill F. *Macromolecules* 23 (1990) 23; Saito H, Tabeta R, Hirano S. *Chem Lett* (1981) 1479.
- **Felt O, Baeyens V, Zignani M, Buri P., Gurny R.,** (1999). in *The Encyclopedia of controlled drug delivery* E. Mathiowitz ed., Wiley and Sons, Inc., 605-626, New York, USA.
- **Frehaut G, (2002).** Un procédé "propre" de production du chitosane. *Bulletin Électronique (BE) Allemagne*, 121 p.
- **Franchi A, O'Melia CR,**(2003). *Environ Sci Technol* 37 1122.

Références bibliographiques

- **Gagné Nellie, 1993.** Production of chitin and chitosane from crustacean waste and their use as a food processing aid . Master of science. McGill University, Montreal.
- **Frehaut G. (2002).** Un procede “propre” de production du chitosane. *Bulletin Électronique (BE) Allemagne*, 121 p.
- **Frehaut G. (2002).** Un procede “propre” de production du chitosane. *Bulletin Électronique (BE) Allemagne*, 121 p.
- **Gauthier V., Barbeau B., Tremblay G., Millette R. et Bernier A-M. 2003.** « Impact of raw water turbidity fluctuations on drinking water quality in a distribution system ». *Journal of Environmental Engineering and Science*. vol. 2, p. 281 291.
- **Grégorio Crini, Pière-Marie Badot et Eric Guibal, 2009.** Chitine et chitosane .Du biopolymère à l'application.
- **Guibal .E. (2004).**Sep Purif Technol 38 43.
- **Goosen MFA(1997).**Applications of chitin and chitosan. Lancaster: Technomic Publishing
- **Hudson SM, Jenkins DW (2003).** Chitin and Chitosan in: EPST. Mark HP, ed. New York: Wiley 569.
- **Huang, C., S. Chen et Ruhsing Pan J. (2000).** Optimal condition for modification of chitosan: a biopolymer for coagulation of colloidal particles, Wat. Res. 34 (3): 1057-1062
- **Hejazi R.,Amiji M., (2003).** Chitosan-based gastrointestinal delivery systems. J. of Controlled release 89: 151-165.
- **Harsh prashanth, F.S.Kitter, R.N. tharanathan. K.V. (2002):** Solid state under différent N-deacetylating conditions. Carbohydrate polymers 50 27-33.
- **Hackrnan. R.H., Aust (1960).** J. Biol. Sci., 13 568.
- **Jung W.J., Jo G. H., Kuk J. H., Kim K. Y. and Park R. D., (2005b).** Extraction of chitin from red crab shell waste by cofermentetion with *lactobacillus paracasei* sub sp. Tolerans kctc- 3074 and Serratia marcescens FS-3 Appl. Microbiol. 71 (2), 234-237.
- **Jahn, S.A.A, (1988)** Using Moringa seeds as coagulants in developing coutries. Journ. Am. Wat. Wks. Ass. 90: 43-50.
- **Jourdin, Philippe (2001)** Les crustacés contre les eaux usées. La Science au Québec.
- **Knorr.D,(1983)** Dye binding proprieties of chitin and chitosan. J. Food Sci. 48.

Références bibliographiques

- **Ko J. A., Park H. J., Hwang S. J., Park J. B., Lee J. S.** (2002). Preparation and characterization of chitosan microparticles intended for controlled drug delivery. *International J. of Pharmaceutics*, 249: 165-174.
- **Kurita K** ,(1979) .*Prog Polym Sci* 26 17.
- **Kieter**, (1999).Le chitosane:[http : www.france.com/kieter/Es.htm](http://www.france.com/kieter/Es.htm).
- **Kurita K.**, (2001). Controlled functionlization of the polysaccharide chitin. *Prog. Polym. Sci.*,26, 1921-1971.
- **Kedou.M.A.** (2008). Elaboration, caractérisation et application de membranes a base de chitosanes. M'hmed Boughera, Boumerdes.
- **Khan, T.A.,peh, K.K.,and C'ing.**(2000). Mechanical biochanical bioadhesive strength and biological evaluation of chitosan films for wound dressing. *Journal of pharmaceutical and pharmaceutical science*, 3(3), H.S3003-3371.
- **Kurita K. Marine** (2006) .*Biotechnol* 8203
- **Kassai M.R, Arul J, Charlet G. J Polym**(2000) *Phys* 38 2591.
- **Kasaai.M.R** (2007). Calculation of Mark–Houwink–Sakurada (MHS) equation viscometric constants for chitosan in any solvent–temperature system using experimental reported viscometric constants data. *Journal of Carbohydrate Polymers* 68 (2007) 477–488.
- **Kin, C., Li, H., Xiao, Q., Liu, Y., Zhu, J., & Du, Y.** (2006). Watersolubility of chitosan and its antimicrobial activity. *Carbohydrate Polymers*, 63(3), 367–374.
- **Legros W., Straus A-M., Bbultot H. and Versali M- F.**, (2001). Kitozyme:Le nouveau spin off de biotechnologie de l'université de Liège. Conférence de Press, Château de colonster.
- **LaMer VK, Healy TW** (1963). *Rev Pure Appl Chem* 13 112.
- **Le Roux K**,(2009). Rapport d'avancement de thèse application de l'hydrolyse enzymatique pour l'extraction de la chitine>> documentation interne Ifremer du 29/10/2009.53p
- **Muzzareli RAA**,(1977).chitin.Oxford:Pergamon Press
- **Muzzareli RAA.**JeuniauxC,GoodayGW.chitin in Nature and Technology. New York: Plenum

Références bibliographiques

- **Morfin I., Hazot P., Guillot F., Soler C., Korwin-Zmijowska C., Tahiri K., Chevalier X., Corvol M. and Domard A.,** (2002). Percolating hydrogels for tissue engineering. *Europ. Cells and Materials*, 4.suppl., 55-56.
- **M. Paner, L.F.Beste, Amer**(1976).*Chem.Soc., Pol.Preprints*,17 (1) 65.
- **Muzzarelli RAA,** (1973). *Naturel chelating polymers*. Pergamon Press, Oxford
- **Martin Poirier,** (2000) Fractionnement et caractérisation de la chitine dans le système n,n-diméthylacétamide 1 chlorure de lithium. LAVAL.
- **Moringa oleifera seeds, Wat. Res** (1975). 32 (3): 781-791. Moordjani, M. N. , Achutha, V. and khacim. Parameters affecting the viscosity of chitosan from prawn waste. *Journal of food Science and Technology*. 12, D. I. 187-189.
- **Marinard Biotech** (2001). Utilisation du chitosane pour une réduction du phosphate à l'effluent d'entreprises aquacoles.
- **Mather NK (1990),** Narang CK. *J Chem Educ* 67938
- **M. Paner, L.F. Beste, Amer. Chem**(1976). *Soc., Pol. Preprints*, 17 (1) 65.
- **Vincendon .M.** (1986), dans *Chitin in Nature and Technology*, Éd. : R.A.A Munarelli, C. Jeuniaux and G.W. Gooday, Plenum Press, New-York p. 343
- **Muzzarelli, R. A. A.** (1977). *Chitin*. Oxford, Pergamon, 309 p.
- **Muzzarelli RAA**(1983). *Carbohydr Polym* 353.
- **Muzzarelli A. A. Riccardo, Fabio Tanfani, Gianfranco Scarpini and Giuseppe Laterza,**(1980). The degree of acetylation of chiton by gas chromatography and infrared spectroscopy. *J. of Biochem.biophy. Methods*, 2, 299-306.
- **No HK, Meyers SP** (2000). *Rev Environ Contam Toxicol* 1631.
- **No HK, Meyers SP** (1997). Preparation of chitin and chitosan in: *Chitin Handbook*. Muzzarlli RAA, Peter MG, eds. Grottammare: Atec Edizioni 475.
- **Ndabigengesere, A. et K.S. Narasiah** (1998) Quality of water treated by coagulation using.
- **No HK, Meyers sp.** *J Aquatic Food Product Technol* 4(1995) 27.
- **Nwe N. et W.F. Stevens (2002).** Production of fungal chitosane by solid substrate fermentation followed by enzymatic extraction. *Biotechnol. Lett.*, 24, 131-134.
- **Niola F. (1991).** *Étude de la réaction de désacétylation de la chitine par le procédé thermo-mécano-chimique*. Mémoire de maîtrise, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, QC, Canada, 128 p. NIEDERHOFER A. et B.W. MULLER (2004).

Références bibliographiques

- **Nugraha Edhi Suyatama(2006)**, Développement de films biodégradables à base de chitosane : Etude du mélanges chitosane /PLA, de la plastification et de compatibilisation. Thèse de doctorat, Université de Reims, juin.
- **No, K ., Meyers, S.P., and Lee(1989)**. Isolation and caractérisation of chitin from craw ash shell waste. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 37, k. S. 575-579.
- **Onsoyen E, Skaugrud O(1990)**. *J Chem Technol Biotechnol* 49395.
- **Pa JH, Yu TL. Macromol Chem(2001)** Phys 202 985.
- **Publishing Corporation(1986)**.
- **Plonski B.A., H.V. LUONG et E.J. BROWN (1990)**. Arsenic sorption by chitosan and chitin deacetylase production by *Mucor ruoxii*. *Biorecovery*, 1, 239-253.
- **Prud'homme.J.R.E.Prud'homme (1981)**, Synthèse et caractérisation des macromolécules, Les Presses de l'université de Montréal, Montréal.
- **Rudall KM(1969)**.*JPolym Sci Part C* 28 83
- **Roberts, G.A.F(1999)**.structure of chitin and chitosane.In: Chitin chemistry,edited by Ruhsing Pan, J., C. Huang, S. Chen et Y.C. Chung. Evaluation of a modified chitosan biopolymer for coagulation of colloidal particles.*Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng.Asp.* 147 (3):. 359-364.
- **Rinaudo, M., Pavlov, G., Desbrieres, J., (1999)**. "Influence of acetic acid concentration on the solubilization of chitosane". *Polymer*, 40, 7029-7032
- **Ravi Kumar, M. N. V., 2000**. «A Review of Chitin and Chitosan Applications». *Reactive and Functional polymers*, vol. 46, p. 1-27.
- **Rauch F, Dornish M(2006)**.Chitosan in: An introduction to biomaterials.Guelcher SA, Hollinger JO, eds. CRC press 14603.
- **Rauch F, Dornish M (2006)**. Chitosan in: An introduction to biomaterials. Guelcher SA, Hollinger JO, eds. CRC press 14 249.
- **Roberts .G.A.F. (1 992)**., Chitin Chemistry, The MacMillan Press LTD, London.
- **Roberts .G.A.F., Mac Millan (1992)** Press,Houndmills. pp.1-53.
- **Ravi Kumar (2000)** MNV. *React Funct Plym* 46 1.
- **Rao M. S., Munoz J. and Stevens w .F., (2000)**. Critical factors in chitin production by fermentation of shirimp biowaste. *App. Microbiol. Biotechnol.* 54,808-813.

Références bibliographiques

- **Rinaudo M, Domard A (1989).** Solution properties of chitosan in: Chitin and chitosan. Sources, chemistry, biochemistry, physical properties and applications. Skjak-Brack G, Anthonsen T, Sandford PA, eds. London and New York: Elsevier 71.
- **Rinaudo M, Pavlov G, Debri  re J.,(1999).** Polym 407029.
- **Rinaudo M.**prog polym Sci 31.,(2006) 603.
- **Ruehrwein RA, Ward DW. Soil Sci 73., (1952)** 485.
- **Raymond L, Morin FG, Mrchessault RH., (1993).** Carbohydr Res 246 331.
- **Salah Rym. (2005).** Reparat  on d'oligosaccharides a partir d'une biomasse marine : La chitine. ENP, El Harrach, Alg  rie.
- **SannanT.Kurita K IwakuraY.,(1976).**Makromol.Chem.177 3589.
- **Shahidi F., Abuzaytoun R.,(2005).** Chitin, chitosan, and co-products: chemistry, productions, applications, and health effects. Adv. Food Nutr. Res. , 49: 93-135.
- **Struszczyk MH,(2002)** Polimery 47 316.
- **Sandford PA,(2003).** Commercial sources of chitin and chitosan and their utilization in: Advances in chitin science. Varum KM, Domard A, Smidrod O, eds. Trondheim: NTNU 635.
- **Sandford .P.A,(1989).** Chitosan: commercial uses and potentiels in: Chitin and Chitosan. Sources, Chimistry, biochemistry, physical properties and applications. Skjak-Braek G, Anthonsen T, Sandford PA, eds. London and New York: Elsevier 51.
- **Struszczyk. M.H, (2002).** Polimery 47 396.
- **Semerjian.L. et G.M. Ayoub, (2003).** High-pH–magnesium coagulation–flocculation in wastewater treatment. Adv. Env. Res. 7: 389–403.
- **Sanghi, R, B. Bhattacharya et V. Singh (2006).** Use of Cassia javahikai seed gum and gum-gpolyacrylamide as coagulant aid for the decolorization of textile dye solutions. Biores. Tech.. 97 (10): 1259-1264.
- **Sanghi. R, B. Bhattacharya.A, Dixit et V. Singh., (2006)** .Ipomoea dasysperma seed gum: An effective natural coagulant for the decolorization of textile dye solutions. J. Env. Man. In Press.
- **Shigemasa Y, Matsuura H, Sahiwa H, Saimoto H (1996).** Int J Biol Macromol 18 237.
- **Shirai K.S, Guerrero I., Huerta S, Saucedo G, Castillo A, Gonzalez.R. O. and Hall M. G., (2001).** Effect of initial glucose concentration and inoculation level of lactic acid bacteria in shrimp waste ensilation . Enz. And Microbial Technol., 28, 446-452.

Références bibliographiques

- **Sannan T, Kurita, Ogura K.,** (1978) Iwakura Y. *Polymer* 19458.
- **Synowiecki Joseph and Nadia Ali Abdul Quawi Al Khateeb.,** (2000). The recovery of protein hydrolysate during enzymatic isolation of chiton from shrimp crangon processing discards. *Food Chemistry*, 68, 147-152.
- **Tan SC, Khor E, Tan T, Wong SM. Talanta 45.,** (1998) 713.
- **Tolaimate A, Desbrieres J, Rhazi M, Alagui** (2003) *A Polimer* 44 7939.
- **Tolaimate A., J. Desbrières, M. Rhazi, A. Alagui, M. Vincendon et P. Vottero.,** (1999). «On The Influence of Deacetylation Process on The Physicochemical Characteristics of Chitosan from Squid Chitin». *Polymer*, vol. 41, p. 2463-2469.
- **Vetter J, Food Chem 102** (2007) 6
- **Viney C, Harish D. Indian Drugs 39.,** (2002) 191.
- **Viney C, Harish D,** (2002). *Indian Drugs* 39 191.
- **Varum KM, Smidsrod O.,** (2005). Structure-properties relationship in chitosan in: *Polysaccharides. Structural diversity and functional versatility*. Dumitriu S, ed. New York: Marcel Dekker 2nd 625.
- **Vilaginès, R.** (2000). *Eau, environnement et santé publique. Introduction à l'hydrologie*. New York: Éditions Tec & Doc, 174 p.
- **Vaillancourt,** (2008) Évaluation d'un procédé de coagulation-floculation au chitosane pour l'enlèvement du phosphore dans les effluents piscicoles P
- **Wang, W. et D. Xe.** (1994). Viscosity and flow properties of concentrated solution of chitosane with different degree of désacétylation, *Int. J. Biol. Macromol.*, 16 (3) 149-152.
- **Weber WJ,** (1972). *Physicochemical processes for water quality control*. New York: J Wiley, 640.
- **White SA, Farina PR, Fulton L,** (2002), *Appl Microbiol* 35
- **Wang, D., W. Sun, Y. Xu, H. Tang and J. Gregor,** (2004) Speciation stability of inorganic polymer flocculant-PACl. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Asp.*, 243 (1-3): 1-10.
- **Wang, D., W. Sun, Y. Xu, H. Tang and J. Gregory.,** (2004) Speciation stability of inorganic polymer flocculant-PACl. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Asp.*, 243 (1-3): 1-10.
- **Weiss IM, Schonitzer V,** (2003). *J Struct Biol* 153 264.

Références bibliographiques

- **Yang Y-P., X- H., Chen H-F.,**(2004). Treatment of chitin-producing wastewater by micro-electrolysis-contact oxidization. *Journal of Zhejiang University Science*. 5(4): 436-440.
- **Yang et Zall RR.,**(1984). *Industriel Eng Chem Product Res Development* 23(1984) 168.
- **Yu GE, Morin FG, Nobes GAR,** Marchessault RH. *Macromolecules* 33 (1999) 518.
- **Yu, G., F. G. Morin, G. A. R. Nobes et R. H. Marchessault. (1999).** «Degree of Acetylation of Chitin and Extent of Grafting PHB on Chitosan Determined by Solid State 15N NMR». *Macromolecules*, vol. 32, p. 518-520.
- **Yomota C., Miyazaki T., Okada S.** (1993). *Determination of the viscometric constants for chitosan and the application of universal calibration procedure in its gel permeation chromatography*. *Colloid Polym. Sci.*, 271: 76-82.
- **Zhang Y, Xue C, Xue Y, Gao R, Zhang X** (2005). *Carbohydr Res* 340 1914.
- **Zemmouri Hassiba.** (2008). Utilisation du chitosane comme agent flocculant dans le traitement des eaux. Mémoire de Magister. ENP, El Harrach, Algérie.

➤ Spectroscopie Infrarouge (IRTF)

Principe:

L'absorption d'un rayonnement infrarouge par une molécule provient de l'interaction de la composante électrique des ondes électromagnétiques incidentes avec les dipôles électriques des liaisons non symétriques. Elle concerne essentiellement les espèces moléculaires pour lesquelles les différences énergétiques entre les états de rotation et celles entre les états de vibration sont relativement faibles. Elle requiert que les mouvements de vibration et de rotation de la molécule modifient son moment dipolaire. Les vibrations peuvent être classées en deux catégories: les vibrations d'élongation (symétrique et asymétrique) et les vibrations de déformation angulaire ou l'on distingue quatre types: le cisaillement, la rotation, le balancement et la torsion.

➤ Mesure de la DCO:

La détermination de la DCO passe par deux étapes:

1. Oxydation chimique des matières réductrices contenues dans l'eau par excès de dichromate de potassium $K_2Cr_2O_7$

- ✓ Cette oxydation se réalise avec $K_2Cr_2O_7$ en milieu acide avec H_2SO_4 , en présence de sulfate d'argent (Ag_2SO_4) et de sulfate de mercure ($HgSO_4$). Le dichromate de potassium est un oxydant très puissant et le sulfate d'argent est un catalyseur d'oxydation utile à l'oxydation des chaînes d'alcools et des acides gras.
- ✓ Le dichromate de potassium de couleur orangée est réduit en ions chrome de couleur verte, d'où le changement de teinte du milieu réactionnel observé pendant la minéralisation. Un milieu totalement vert après la minéralisation signifie l'absence d'excès de dichromate, donc l'impossibilité est de déterminer la DCO. Dans ce cas, la minéralisation doit être recommencée après dilution de l'échantillon.
- ✓ Les conditions d'oxydations à chaud et en milieu acide permettent également d'oxyder de nombreux constituants organiques avec un rendement voisin de 100%, à l'exception des composés à longues chaîne carbonée, de certains produits aromatiques et ceux ayant des fonctions amines ou amides.

2. Dosage de l'excès de dichromate de potassium par spectrophotomètre visible

La fin de dosage se fait par lecture, après refroidissement, de la densité optique à la longueur d'onde 600nm, à l'aide d'un spectrophotomètre visible.

3. Protocole expérimentale

3.1. Préparation des solutions étalons

3.1.1. Solution de digestion

- ✓ Dissoudre 10,2g de $K_2Cr_2O_7$, préalablement séché à 105°C pendant 2heures, dans environ 500ml d'eau.
- ✓ Ajouter doucement 167ml de H_2SO_4 et 33,3 de $HgSO_4$.
- ✓ Agiter jusqu'à dissolution complète, laisser refroidir et compléter à 1000ml avec de l'eau distillée.

3.1.2. Réactif acide

- ✓ Ajouter Ag_2SO_4 dans H_2SO_4 concentré à raison de 5,5g d' Ag_2SO_4 par Kg d'acide sulfurique.
- ✓ Laisser reposer 1à 2 jours afin que Ag_2SO_4 soit complètement dissous.
- ✓ La solution doit être conservée à l'obscurité.

3.1.3 Solution d'acide sulfurique 9N

Préparer 100ml d'une solution de H_2SO_4 9N.

3.1.4. Solution étalon de biphtalate de potassium à 1000mg/l

- ✓ Sécher le biphtalate de potassium au four à 120°C pendant 2heures et laisser refroidir au dessiccateur.
- ✓ Dissoudre 651mg de biphtalate de potassium dans environ 800ml et compléter à 1000ml avec l'eau distillée.
- ✓ Cette solution se conserve 2ans à environ 4°C.

3.1.5. Préparation de l'échantillon et des solutions étalons

Les échantillons et les solutions étalon sont traités de la même manière

- ✓ Homogénéiser l'échantillon et les solutions étalon.
- ✓ Prélever à l'aide d'une pipette 2,5ml d'échantillon ou de solution étalons.
- ✓ Ajouter 1,5ml de la solution de digestion dans chaque tube.
- ✓ Mélanger le tout.
- ✓ Porter à reflux dans le chauffe ballon à une température de 150°C pendant une période de 2heures.
- ✓ Après minéralisation, retirer les flacons et laisser refroidir à température ambiante.
- ✓ Effectuer un essai a blanc en remplaçant l'échantillon à analyser par l'eau distillée.
- ✓ Ajuster la longueur d'onde du spectrophotomètre à 600nm et effectuer la lecture.

Annexe

4. Etablissement de la courbe d'étalonnage:

A partir de la solution étalon de 1000mg/l, préparer dans des fioles jaugées de 100ml, une série de solution aux concentrations suivantes: 100, 150, 200, 250, 300, 350, et 400 mg/lO₂.

Ajouter 0,5 ml de H₂SO₄ 9N dans chaque solution étalon préparée.

Déterminer la DCO de chaque solution étalon préparée.

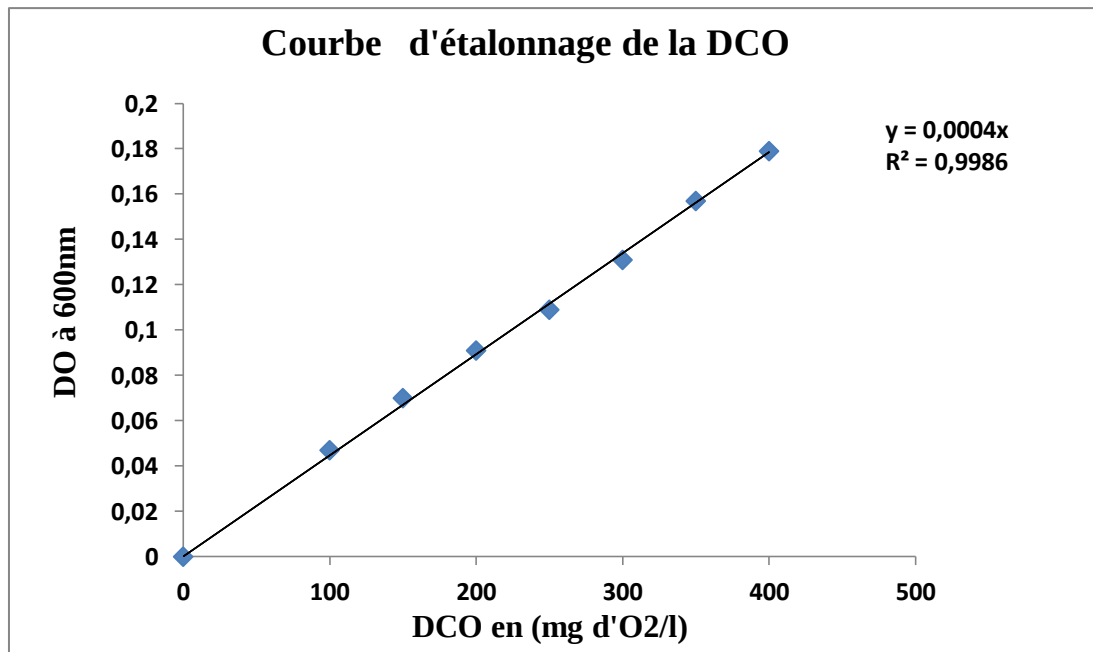


Fig: Courbe d'étalonnage de la DCO

Résumé

L'application des matériaux d'origine naturelle dans le traitement des eaux résiduaires par coagulation-floculation, notamment le chitosane, a suscité une attention considérable ces dernières années. Dans ce travail, trois étapes ont été réalisées: d'abord, la préparation des chitosanes par désacétylation alcaline à température ambiante, à partir de deux chitines (A et B) dont l'origine et le mode d'extraction sont différents. Par la suite, les deux produits obtenus ont été caractérisés par le test de solubilité, la détermination du degré de désacétylation (DDA) selon trois méthodes : spectroscopie Infrarouge (FTIR), dosages conductimétrique et pH-métrique et la détermination de la MM par viscosimétrie.

Les deux chitosanes A et B, parfaitement solubles dans de l'acide acétique à 1% et de l'acide chlorhydrique à 0,1N, ont permis d'atteindre un rendement de désacétylation dépassant les 80 % ; des masses moléculaires (MM) de 2799.4 et de 1796.5 kDa pour les chitosanes A et B, respectivement.

Enfin, un test de coagulation-floculation a été effectué sur un effluent issu de la station d'épuration ONA (Office Nationale d'Assainissement, Tizi-Ouzou) par ajout de biopolymères préparés dans cette étude (chitosanes A et B) à différentes doses (0,2-10ml/l). Cette étude a démontré que les 2 chitosanes sont, non seulement, de bons agents biofloculants puisque des taux d'abattement de la turbidité dépassent les 80% mais aussi de bons adsorbants puisque des taux d'enlèvement de la DCO supérieurs à 90% ont été obtenus.

Introduction générale

Partie théorique

Partie expérimentale

Conclusion générale

