

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mohamed Boudiaf- M'sila

Faculté des sciences
Département de Chimie
N°:



Domaine : Sciences de la Matière (SM)
Filière : Chimie
Option : Chimie Organique

Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme
De
Master Académique en Chimie Organique

Par :

M^{elle}. MOKHLOUFI Imane

Thème

Devant le jury composé de :

Optimisation d'Extraction de la Glucosamine par Voie Hydro-Chimique à Partir des Déchets Alimentaires : Caractérisation Moléculaire et Étude des Procédés de Modification

Année universitaire : 2022/2023

Remercîment

Nous exprimons notre gratitude envers Dieu.

Tout-Puissant, qui nous a accordé son soutien, une grande patience et du courage tout au long de nos années d'études difficiles.

Nous le remercions d'avoir guidé nos pas jusqu'à ce niveau.

Nous sommes honorés par le travail noble et l'attention accordée par **Mr. Hocine BOULEGHLEM** à notre travail.

Nous le félicitons pour sa précieuse contribution à la réalisation de ce projet, grâce à ses nombreuses années d'expérience professionnelle dans le domaine de l'éducation.

Sa volonté constante de nous guider et de nous enseigner les méthodes de la recherche scientifique a été essentielle dans la réalisation de ce travail.

Nous souhaitons également exprimer notre gratitude envers les membres du jury, à savoir **Mr. MELOUKI A, Mme.ZIDANE S, Mme.BELHADDAD O** et **Mr.LADGHAM CHIKOUCHE M.D**, pour avoir accepté de juger notre travail.

Leur participation est grandement appréciée.



DÉDICACE

*A mes très chers parents, source de
vie, d'amour et d'affection*

*A mes chers frères et leurs enfants,
source de joie et de bonheur*

*A toute ma famille, source d'espoir
et de motivation*

A tous mes amis

A vous cher let.....

.....Imane

Juin 2023



LISTE DES FIGURES

CHAPITRE I

FIGURE. I.1. STRUCTURE CHIMIQUE DE LA CHITINE ET DE LA CELLULOSE.... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.	
FIGURE I.2.STRUCTURE CHIMIQUE DE CHITINE.....	16
FIGURE I.3.DIFFERENTES DE LA CHITINE.....	18
FIGURE I.4.STRUCTURE CHIMIQUE DU CHITOSANE	19
FIGURE I-5PROCEDES D'OBTENTION DE CHITINE ET DE CHITOSANE	21

CHAPITRE II

FIGURE. II.1. STRUCTURE CHIMIQUE DE LA GLUCOSAMINE ET DU GLUCOSE ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.	
FIGURE. II.2. STRUCTURE DE D-GLUCOSAMINE (A) ET DE SULFATE DE D-GLUCOSAMINE (B). ...	35
FIGURE. II.3. STRUCTURES CHIMIQUES DES ISOMERES DES CHAINES DE LA D-GLUCOSAMINE ...	36
FIGURE. II.4. STRUCTURE DE D-GLUCOSAMINE CHLORHYDRATE	37
FIGURE. I.5. SYNTHÈSE DU GLUCOSAMINE A PARTIR DE LA CHITINE ET DU CHITOSANE (MARINARD BIOTECH, 2003).....	38
FIGURE. II.6. MUTAROTATION ENTRE LES FORMES A, OUVERTE ET B DE LA D-GLUCOSAMINE ..	40
FIGURE. II.7. ÉQUILIBRE ENTRE LES FORMES PYRANOSE ET FURANOSE DE L'A-D-GLUCOSAMINE	41
FIGURE. II.8. DIFFERENTES CITES DE MODIFICATION DE LA GLUCOSAMINE	42
FIGURE. II.10. PROTECTION DE LA FONCTION AMINE ET ENSUIT L'ACÉTYLATION	44
FIGURE. II.12. PROTECTION DE LA FONCTION AMINE L'ACRYLATION.	45
FIGURE. II.13. ALLYLATION PAR LA REACTION DE KOENIGS-KNORR.....	45
FIGURE. II.14. PROTECTION L'ALCOOL PRIMAIRE PAR LE CHLORURE DE TRITYLE	46
FIGURE. II.15. TOSYLATION DE L'HYDROXYLE PRIMAIRE	46
FIGURE. II.16. REACTION DE SYNTHÈSE DU DONNEUR DE GLYCOSYLE	47
FIGURE. II.17. PROTECTION TOTALE DU D-GLUCOSAMINE PAR L'ANHYDRIDE ACÉTIQUE.....	48
FIGURE. II.18. SYNTHÈSE DE DIFFÉRENTES B-D-GLUCOSAMIN-AZOMETHINES A PARTIR DE DIFFÉRENTS ALDÉHYDES	49

CHAPITRE III

FIGURE III.1 : PRÉPARATION LA POUDRE DE CREVETTE	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
FIGURE III.2 : PRÉPARATION LA POUDRE DE CACAHUÈTE.....	604

CHAPITRE IV

FIGURE.IV.1. CHITINE ET DERIVÉS DE LA CHITINE	72
---	----



LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU. I.1 : LES ESTIMATIONS APPROXIMATIVES DE LA CHITINE DANS LES PRINCIPALES SOURCES.....	17
TABLEAU. II.2 : REPRESENTE DES EXEMPLES DE SOURCES CONTENANT DE LA CHITINE, AINSI QUE LES COMPOSITIONS DISPONIBLES DONNEES.....	18
TABLEAU .I.1. PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DE LA GLUCOSAMINE.....	39
TABLEAU.1.: RENDEMENT DES DIFFERENTES ETAPES D'EXTRACTION DE LA CHITINE.....	70
TABLEAU.1.: RENDEMENT DES DIFFERENTES ETAPES D'EXTRACTION DE LA CHITINE.....	71
TABLEAU.3.RENDEMENT DE LA CHITINE DESACETYLEE A TEMPERATURE 80°C.....	71
TABLEAU.4.RENDEMENT DE LA CHITINE DESACETYLEE A TEMPERATURE 120°C.....	71
TABLEAU.II.5. PLAN D'HYDROLYSE DE LA CHITOSNE EN PRESENCE D'ACIDE CHLORHYDRIQUE	73
TABLEAU I.8. VALEURS DE CI50 DE LA CHITINE ET LA CHITOSANE ET LA GLUSOAMINE ET VIT C. ET VIT C POUR LE PIEGEAGE DU RADICAL DPPH•.....	76

SOMMAIRE

Remerciement	1
dédicace	II
liste des figures.....	Error! Bookmark not defined.
liste des tableaux.....	III
sommaire.....	V
liste des abréviations et symboles	VIII
introduction	Error! Bookmark not defined.

PARTIE THÉORIQUE

Chapitre I :Chitine et Chitosane

I.Chitine et Chitosane.....	15
I .1 Chitine.....	16
I.1.1. Structure chimique.....	16
I.1.2.Source de la chitine	16
I.2.Chitosane.....	19
I.2.1. Définition.....	19
I.2. Structure du chitosane.....	19
I.2.1.Production de la chitine et du chitosane	20
I.2.1.1. Extraction par voie chimique:	20
I.2.1.2.Par voie biologique	21
I.2.2.Propriétés physicochimiques et biologiques du chitosane.....	22
I.2.2.1.Propriétés physicochimiques	22
I.2.2.1.a. Degré de désacétylation (DD).....	22
I.2.2.1.b. Masse moléculaire	22
I.2.2.1.c.Solubilité	22
I.2.2.1.d. Viscosité	23
I.2.2.2.Propriétés biologiques	23
I.2.2.2.a. Biodégradabilité	23
I.2.2.2.b. Biocompatibilité.....	23
I.2.2.2.c. Activité antimicrobienne	24
I.2.2.2.d.Activité antioxydant	24
I.3. Principales applications	25
I.3.1.Domaines biomédical et pharmaceutique.....	25
I.3.2. Domaine Agricultural	25
I.3.3. Domaine agroalimentaire	26
I.3.5.Domaine Cosmétique.....	26
I.2.3.6. Environnement Traitement de l'eau potable (coagulation/floculation, filtration, absorption) [67].	26
I.3. Conclusion	27
Références Bibliographique.....	27

Chapitre II Glucosamine et leurs dérivés

II. Introduction	34
II.1. Historique	34
II.2. Généralité sur les hétérocycles de types Osamines.....	35
II.2.2. D-glucosamine chlorhydrate	36
II.3. Voie de synthèse de glucosamine:.....	37
II.4. Propriétés physiques et chimiques de la glucosamine	39
II.4.1. Propriétés conformationnelles	40
II.4.1.1. Formes anomères (α/β)	40
II.4.1.2. Formes pyranose et furanose	41
II.5. Domaines d'application de la D-Glucosamine.....	41
II.6.1. Utilisations de D-glucosamine au médecin	42
II.6.2. Utilisation de la D-Glucosamine en synthèse Organique.....	42I
II.6.1. Fonctions protégées de la D-glucosamine.....	43
II.6.1.1. Protection des groupes amine et hydroxyle	43
II.6.1.1.1. Protection du groupe amine ($-\text{NH}_2$):	43
II.6.1.1.1.a. Protection de fonction amine par chlorure d'allyloxy-carbonyle	43
II.6.1.1.1.b. Protection de fonction amine par anhydride phtalique	44
II.6.1.1.1.c. Protection par chlorure d'acryloyle	44
II.6.1.1.2. Protection des fonctions alcools :.....	45
II.6.1.1.2.a. Protection de l'alcool (1C) anomérique:.....	45
II.6.1.1.2.b. Protection de l'alcool primaire (6C) :.....	45
II.6.1.1.2.b.1. Protection par le chlorure de trityle	45
II.6.1.1.2.b.2. Protection par le chlorure de tosyle	46
II.6.1.2. Protection de la fonction amine et la fonction alcool position 1H.	47
II.6.1.2. Protection totale par l'anhydride acétique:	47
II.6.1.3.1. Synthèse de D-Glucosamin-azométhine.....	48
II.6.1.3.1.1. Synthèse d'azométhine- β -D-Glucosamine protégée à partir du benzaldéhydesubstitué.....	49
II.3.5.3.2. Condensation par l'acide déhydroacétique.....	49
II.5. Utilisation des Dérivés de D-glucosamine en réaction chimique	50
II.5.1. Utilisation des D-glucosamin-azométhines dans les différents domaines	50
II.5.1.a. En catalyse.....	50
II.5.1.b. En biologie	50
II.5.1.c. En polymère	50
II.6. Conclusion :	50
Références bibliographiques.....	52
Partie Pratique	57
Chapitre III Procédures expérimentales de l'extraction et la caractérisation	
MATÉRIEL ET MÉTHODE.....	59

III.1. Objectif d'étude	59
III.2. Matériels d'expérimentation	59
III.2.1. Solution et produits utilisé	59
III.2.2. Appareillages	59

III.3. METHODE D'ETUDE

III.3.1 Extraction de la chitine et ses dérivés

A.Préparation de la poudre de crevettes	60
B.Préparation de la poudre de la coque de cacahuètes	60
C.Préparation de la poudre de maïs	62
III.4. Extraction de la chitine	63
III.4.1 Procédure chimique	63
Étape 1: Déminéralisation en milieu acide.....	63
<input type="checkbox"/> Étape 2 : Déprotéinisation (naoh)	64
<input type="checkbox"/> Etape 3 : Désacétylation	64
<input type="checkbox"/> Etape 4: Décoloration (blanchiment)	65
<input type="checkbox"/> Étape 5 : Désacétylation	65
<input type="checkbox"/> Étape 5 : Hydrolyse acide.....	66
III.5. Activité antioxydante	66
Références Bibliographies.....	68

IV. Résultats de l'extraction

IV.1 Rendement de l'extraction.....	69
IV.1.1.a. Extraction de la chitine	69
IV.1.1.b. Extraction du chitosane	70
IV.1.1.c. Extraction de la glucosamine	72
Hydrolysats Chimiques.....	73
IV. 2. Conclusion.....	74
IV.3.Activité antioxydant.....	75
Conclusion générale.....	77

Liste des Abréviations et Symboles

GlcNAc : N-Acétyle-D-Glucosamine

GlcN : D-Glucosamine

ManN : D-mannosamine

GalN : D-galactosamine

DA : Degré de d'acétylation

DD : Degré de désacétylation

PH : Pontiel Hydrogène

Kow : Coefficient de partage Octanol / Eau

pKa : Constante d'acidité

pKb : Constante de basicité

NaOH : Hydroxyde de sodium

KOH : Hydroxyde de potassium

NaCl : chlorure de sodium

HCl : Acide chlorhydrique

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

CaCO₃ : Carbonate de calcium

HSO₃ : Hydrogénosulfite

HgCl₂ : chlorure de mercure (II)

HBr : Bromure d'hydrogène

AcOH : Acide acétique

THF : Tétrahydrofurane

Me₃SiCl : Chlorure de triméthylsilyle

ZnCl₂ : Chlorure de zinc

HClO₄ : Acide perchlorique

NH₃ : Ammoniac

DPPH : Diphénylpicrylhydrazyle

IR : Infra Rouge

UV : Ultra-Violet

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

HPLC : Chromatographie en phase liquide haute performance ou haute pression

AINS : Anti-inflammatoires non stéroïdiens

P : Pression

C : Concentration

°C : Degré Celsius

M : Molarité

N : Normalité

h : Heure

min: Minute

g : gramme

ml : millilitre

Introduction Générale

La glucosamine est un composé naturel présent dans le corps humain. C'est un aminosaccharide qui joue un rôle essentiel dans la structure et la fonctionnalité des articulations, des tendons, des ligaments et du liquide synovial [1].

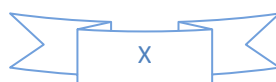
La glucosamine est largement utilisée dans plusieurs domaines. En tant que complément alimentaire, elle est souvent prise pour soutenir la santé des articulations, soulager les symptômes de l'arthrose et favoriser la régénération du cartilage [2]. Elle est également utilisée dans l'industrie pharmaceutique pour la fabrication de médicaments destinés au traitement des affections articulaires [3].

En dehors de son utilisation dans le domaine de la santé articulaire, la glucosamine trouve des applications dans d'autres secteurs. Par exemple, elle est utilisée en cosmétique pour ses propriétés hydratantes et anti-âge [4]. Elle peut également être utilisée dans des domaines tels que l'agroalimentaire pour ses propriétés épaississantes, stabilisantes et texturants, ou encore dans la dépollution des eaux pour son potentiel de chélation des métaux lourds [5].

La problématique de la glucosamine en Algérie est liée à la crise de production rencontrée dans le pays. La production de glucosamine en Algérie est actuellement insuffisante pour répondre à la demande croissante de ce composé. Cette situation entraîne une dépendance excessive vis-à-vis des importations, ce qui peut avoir un impact sur la disponibilité et les coûts de la glucosamine sur le marché local.

Plusieurs facteurs contribuent à cette crise de production. Tout d'abord, il peut y avoir un manque d'infrastructures et de capacités de production dédiées à la glucosamine en Algérie. Cela limite la capacité du pays à produire suffisamment de glucosamine pour répondre à la demande intérieure.

En outre, les ressources naturelles nécessaires à la production de glucosamine, telles que les sources marines ou les co-produits de l'industrie alimentaire, peuvent ne pas être exploitées de manière optimale en Algérie. Une attention insuffisante peut être accordée à la valorisation de ces ressources pour obtenir de la glucosamine.



Introduction Générale

En conséquence, les consommateurs en Algérie peuvent faire face à des difficultés pour accéder à des produits contenant de la glucosamine, que ce soit sous forme de suppléments alimentaires, de médicaments ou d'autres produits dérivés.

Pour résoudre cette problématique, il est important de développer des stratégies visant à renforcer la production locale de glucosamine en Algérie. Cela pourrait inclure la mise en place d'infrastructures de production dédiées, la promotion de la recherche et du développement dans ce domaine, ainsi que l'encouragement de la valorisation des ressources naturelles disponibles sur le territoire algérien.

En surmontant les défis liés à la production de glucosamine en Algérie, il serait possible de réduire la dépendance aux importations, de garantir une disponibilité adéquate de la glucosamine sur le marché local et de répondre aux besoins croissants des consommateurs en matière de produits contenant ce composé bénéfique pour la santé des articulations.

Dans ce contexte, le but de ce travail était de l'optimisation d'extraction de la glucosamine par voie hydro chimique à partir des déchets alimentaires : caractérisation moléculaire et étude des procédés de modification fonctionnelle, dans la perspective de leur utilisation dans le domaine cosmétique. L'objectif de notre étude est d'optimiser les méthodes d'extraction de ces produits et de chercher à utiliser des déchets alimentaires comme source alternative de glucosamine. Ce travail s'organise en deux parties : La partie bibliographique comportant deux chapitres : le premier sur la chitine et chitosane et le deuxième chapitre sur la D-glucosamine et leurs dérivés. La deuxième partie est consacrée aux résultats expérimentaux et à l'exposition de l'ensemble des discussions. Elle sera subdivisée en deux chapitres : le premier, regroupe les procédures expérimentales de l'extraction et la caractérisation et le deuxième chapitre, nous exposerons les résultats et discussions. Enfin, une conclusion générale sera présentée, ainsi que les différentes perspectives concernant ce travail.

Introduction Générale

[1]. **Richy F; Bruyere O et al**, Structural and symptomatic efficacy of glucosamine and chondroitin in knee osteoarthritis: a comprehensive meta-analysis, *Arch Intern Med*, **2003**, 14;163(13), pp.1514-1522.

[2]. **Black C; Clar C; Henderson R et al**, The clinical effectiveness of glucosamine and chondroitin supplements in slowing or arresting progression of osteoarthritis of the knee: a systematic review and economic evaluation, *Health Technol Assess*, **2009 Nov**, 13(52), pp.1-148.

[3]. **Williams C; Ampat G**, Glucosamine Sulfate, *Treasure Island (FL): StatPearls*, **2022**.

[4]. **Casadidio C; Peregrina D V; Gigliobianco M R; Deng S; Censi R. et Martino P**, Chitin and Chitosans: Characteristics, Eco-Friendly Processes, and Applications in Cosmetic Science. *Mar. Drugs*, **2019**, 17: 369.

[5]. **Pourmortazavi S M; Sahebi H; Zandavar H et Mirsadeghi S**, Fabrication of Fe₃O₄ nano particles coated by extracted shrimp peels chitosan as sustainable adsorbents for removal of chromium contaminates from wastewater: The design of experiment, *Composites Part B: Engineering*, **2019**, 175 : 107130.

PARTIE THÉORIQUE

Chapitre I :
Chitine et Chitosane

I. Chitine et Chitosane

En étant une source régénérable d'énergie et un matériau de base pour l'industrie, la biomasse (matériau produit par des êtres vivants) est depuis quelques années d'un grand intérêt pour les scientifiques. La cellulose, le polysaccharide produit par photosynthèse dans les plantes, compose la proportion la plus grande de la biomasse totale (environ 50 %). Le second composé provient d'un autre polysaccharide, la chitine, qui est produite par les animaux marins, les insectes et les champignons [1] (Figure I.1).

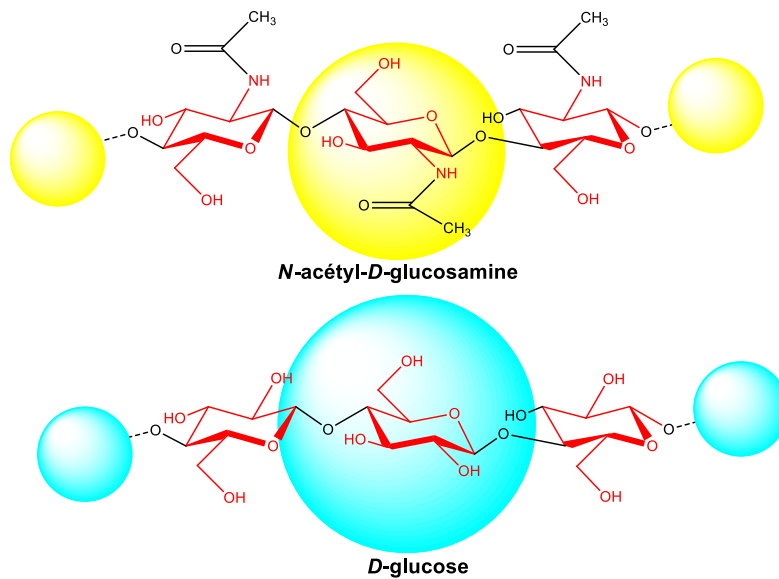


Figure. I.1. Structure chimique de la chitine et de la cellulose

Le chitosane dérivé de la chitine désacétylée est un polymère bioactif utile et intéressant, en dépit de sa biodégradabilité [1], il a beaucoup de groupes latéraux aminés réactifs, qui offrent des possibilités de modifications chimiques, la formation d'une grande variété de dérivés bénéfiques, qui sont disponibles dans le domaine du commerce et d'autres différents domaines [2].

La Chitine et le chitosane sont deux polymères d'origine naturelle. Essences du milieu marin, ils sont par leur abondance et rôles dans le règne animal, l'équivalent de la cellulose dans le règne végétal [3,4].

I.1 Chitine

La chitine est un bio-polymère ou poly-(*N*-acétyl-*D*-glucosamine), qui présente les polysaccharides le plus abondant dans la nature après la cellulose. Elle est formée par des résidus de *N*-acétyl-*D*-glucosamine liés par des liaisons β -(1-4) [1]. C'est un polymère naturel qui est dans le règne animal l'équivalent de la cellulose dans le règne végétal un composant structural des exosquelettes de crustacés, mollusques et arthropodes. Elle est aussi rencontrée dans la structure de la membrane cytoplasmique de certains champignons et algues [2,3].

I.1.1. Structure chimique

La chitine est une molécule de la famille des glucides de formule $(C_6H_{13}NO_5)_n$. Ce qui est un polysaccharide, plus précisément un amino-glucopyranane, composé d'unités de *N*-acétyl-*D*-glucosamine (GlcNAc) et de *D*-glucosamine (GlcN) reliées par des liaisons covalentes β -(1 \rightarrow 4) (Figure I.2).

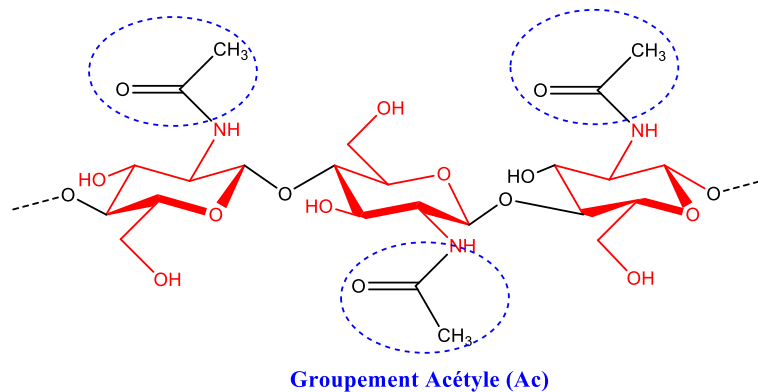


Figure I.2. Structure chimique de chitine

I.1.2. Source de la chitine

Précédemment, les scientifiques ont rapporté que la chitine était présente dans divers organismes. Mais de nos jours et après l'analyse chimique, on estime qu'une grande partie de la chitine produite dans la biosphère est présente dans les océans. On la trouve dans les espèces aquatiques appartenant aux phylatels [1-3]. En outre, la chitine a également été détectée dans des champignons, des algues et protozoaires. Les sources de chitine les plus facilement accessibles sont les exosquelettes d'Arthropoda, qui comprennent les insectes, les arachnides, les myriapodes, ainsi que les crustacés [3,4].

Tableau. I.1 : Les estimations approximatives de la chitine dans les principales sources [46]

Sources de chitine	Teneur en chitine %
<i>Cuticule de crabe</i> (<i>Grapsus marmoratus</i>) (<i>Portunus puber</i>)/(<i>Maia squinata</i>)	15-30
<i>Cuticule de crevette</i> (<i>Palaemon fabricius</i>)	30-40
<i>Langouste</i> (<i>Palinurus vulgaris</i>)	32
<i>Cuticule de krill</i> (<i>Euphausiacea</i>)	20-30
<i>Squilla</i> (<i>Squilla mantis</i>)	20-40
<i>Calmar</i> (<i>Loligo vulgaris</i>)	40
<i>Coquille de palourde / d'huître</i>	3-6
<i>Barnacle</i> (<i>Lepasana tífera</i>)	07
<i>Écrevisses</i> (<i>Astacus fluviatilis</i>)	36
<i>Seiche</i> (<i>Sepia officinalis</i>)	20
<i>Cuticule d'insecte</i>	5-25
<i>Paroi cellulaire des champignons</i> (<i>Mucor rouxii</i>) (<i>Aspergillus niger</i>) (<i>Aspergillus phoenisis</i>)	10-25

D'un point de vue pratique, les coquilles des crustacés marins tels que les crabes et les crevettes sont plus pratiques (**Figure I.2**) ; Ils sont les déchets disponibles de l'industrie de transformation des produits de la mer et utilisé pour la production commerciale de chitine[7]. La chitine constitue environ 14 à 35% des carapaces de crustacés qui contiennent pour le reste des protéines et le carbonate de calcium[8].

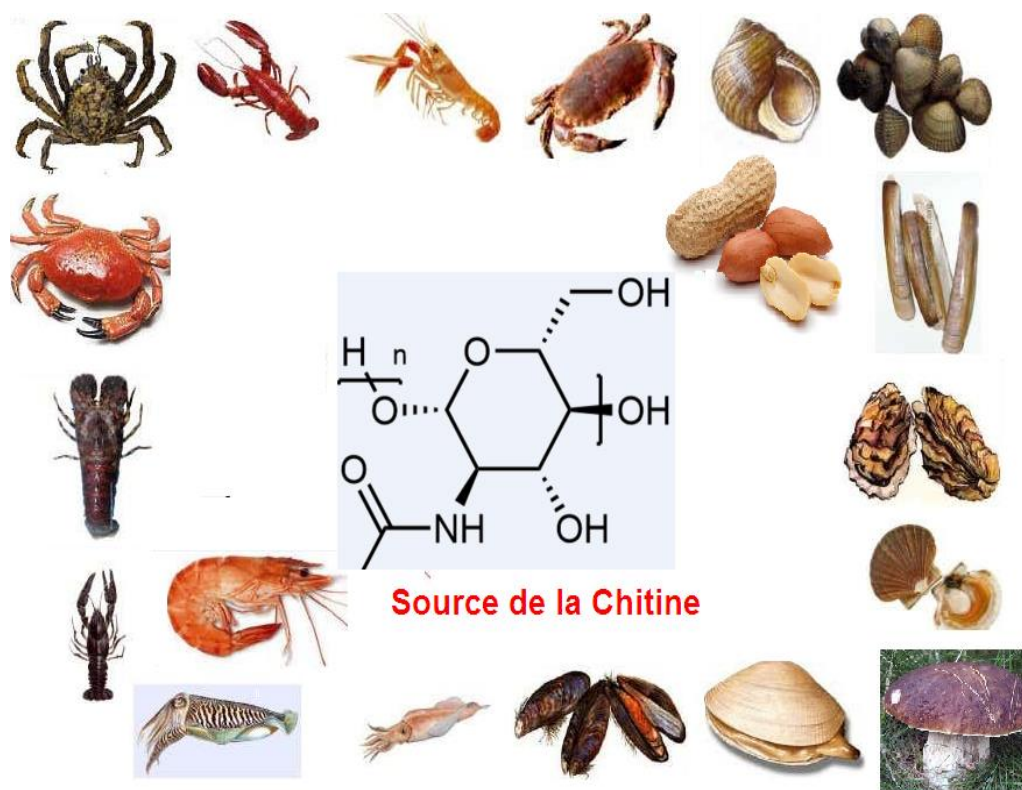


Figure I.2. Différentes sources de la Chitine [8]

Tableau. II.2 : Représente des exemples de sources contenant de la chitine, ainsi que les compositions disponibles données

[8,9]

Sources	Teneur en minéraux	Teneur en protéines
Crabe	66.58	16.68
Crevette rose	42.26	34.02
Homard scyllaride	61.81	16.93
Langouste	63.94	15.56
Seiches	91.25	1.35
Coquilles de moules	23,25	9,99
Calmar gladiés	2.57	36.52
Cuticules d'insectes	11.70	39.80

I.2.Chitosane

I.2.1. Définition

Le chitosane est un composé naturel, non toxique, biodégradable, possédant des propriétés antibactériennes. Il est disponible sous forme des solutions, des granules, poudre et fibre. Le chitosane est disponible sur le marché à un degré de désacétylation (DDA) de 70 à 90 %. Le DDA est une des caractéristiques les plus importantes du chitosane puisqu'il peut influencer non seulement ses propriétés physicochimiques, mais aussi sa biodégradabilité et son activité immunologique [10]. La différence entre la chitine et le chitosane est essentiellement reliée à la possibilité de dissolution du polymère dans une solution acide diluée. Ainsi, lorsque la structure est soluble dans ce genre de solvant, elle correspond au chitosane. Dans le cas contraire, ce sera la chitine.

Le chitosane se dissout dans des solutions diluées de la plupart des acides organiques comme l'acide formique, acétique, tartrique ou l'acide citrique, ainsi que dans certains acides inorganiques. Une valeur de DA supérieure à 60 % correspond à la chitine, où les chaînes deviennent complètement insolubles. Le chitosane a une structure semi-cristalline avec un degré de cristallinité qui dépend du degré de désacétylation. La cristallinité est maximale pour la chitine avec 0 % de degré de désacétylation et pour le chitosane désacétylé à 100 %. Une cristallinité minimale est observée à un degré de désacétylation intermédiaire. Cette cristallinité se traduit par l'insolubilité de la chitine dans un milieu neutre ou acide [10].

I.2. Structure du chitosane

Le chitosane est un polysaccharide linéaire composé de β -(1-4) poly-*D*-glucosamine, tandis que la chitine est composée de β -(1-4) poly (*N*-acétyl-*D*-glucosamine). Le chitosane peut être représenté par une structure chimique [11](Figure I.4.).

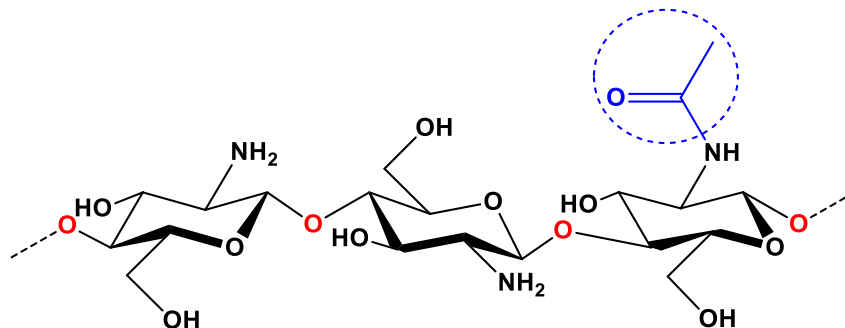


Figure I.4. Structure chimique du chitosane

I.2.1. Production de la chitine et du chitosane

Généralement, l'extraction de la chitine et le chitosane se fait avec deux voies : chimique et biologique. La méthode chimique se fait avec les acides et les bases fortes pour éliminer les minéraux et les protéines [12].

I.2.1.1. Extraction par voie chimique:

La chitine est présente dans les co-produits sous forme de complexe chitine-protéines-minéraux (principalement du carbonate de calcium). Elle 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. La chitine peut ensuite être désacétylée pour obtenir le chitosane, appelé également chitosane : par voie chimique : à haute température par une base minérale concentrée, par voie enzymatique avec la chitine-désacétylase. La frontière entre chitosan et chitine correspond à un degré de désacétylation (DD) de 60-70% [13]: en deçà le composé est nommé chitine, au-delà, chitosan. Le chitosan est soluble en milieu acide (à $\text{pH} < 6,5$) contrairement à la chitine qui est insoluble. De très nombreux dérivés bioactifs peuvent être obtenus à partir de la chitine et du chitosan par diverses réactions chimiques ou enzymatiques.

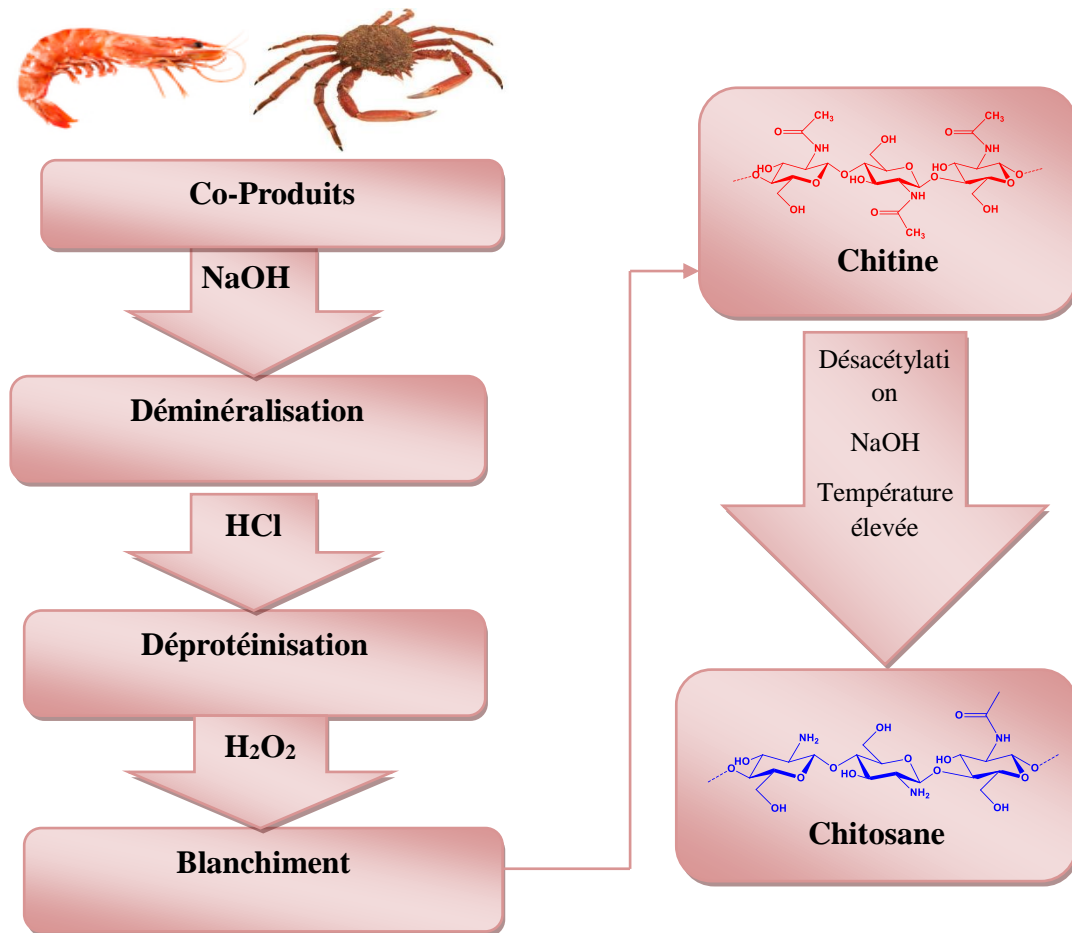


Figure. I.5. Procédés d'obtention de chitine et de chitosane [14-16]

I.2.1.2. Par voie biologique

Les méthodes biologiques d'extraction de la chitine ont été développées récemment. Ils peuvent utiliser des enzymes purifiées ou des microorganismes entiers pour effectuer une fermentation microbienne pour la préparation de la chitine [15], mais, plusieurs paramètres peuvent influencer l'efficacité de cette fermentation comme le pH, la température, la concentration du glucose et du carbone et le temps de fermentation [16,17]. Bien que plus respectueuses de l'environnement, ces méthodes restent moins efficaces. Les principales raisons étant que : la protéine résiduelle dans la chitine produite reste souvent relativement élevée, le temps de réaction est plus long par rapport à la déprotéinisation chimique et des traitements complémentaires sont souvent nécessaires pour améliorer le degré de pureté en chitine. Ces inconvénients rendent la méthode enzymatique peu susceptible d'être appliquée à l'échelle industrielle à moins que des progrès ne soient faits pour rendre le procédé plus efficace.

I.2.2. Propriétés physicochimiques et biologiques du chitosane**I.2.2.1. Propriétés physicochimiques****I.2.2.1.a. Degré de désacétylation (DD)**

Le degré de désacétylation est le principal paramètre qui distingue la chitine du chitosane. Il est défini comme le rapport molaire des unités *D*-glucosamine et *N*-acétyl-*D*-glucosamine dans la structure du polymère. Étant donné que le degré de désacétylation dépend principalement de la méthode de purification et des conditions de réaction, il est donc essentiel de caractériser le chitosane en déterminant son DD avant son utilisation [18,19]. Plusieurs méthodes sont fournies pour déterminer le degré de désacétylation du chitosane, on cite parmi eux : la spectroscopie IR, l'analyse élémentaire et la RMN sur des échantillons solides ou le dosage UV, titrage colloïdal et RMN liquide pour des échantillons en solutions [20,21].

I.2.2.1.b. Masse moléculaire

La masse moléculaire (MM) du chitosane est la deuxième principale caractéristique après la DD. Sa détermination qui nécessite la mise en solution du polymère, peut se faire par des mesures viscosimétriques ou par chromatographie par perméation de gel couplée à des techniques de détection comme la mesure du degré de rotation du plan de polarisation de la lumière ou de sa diffraction. La valeur de la 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 [22].

I.2.2.1.c. Solubilité

Alors que la chitine est insoluble dans la plupart des solvants organiques, le chitosane est facilement soluble dans les solutions acides diluées à un pH inférieur à 6,0. Les acides organiques tels que les acides acétique, formique et lactique sont utilisés pour dissoudre le chitosane [22,23]. Le plus couramment utilisé est une solution d'acide acétique à 1% à un pH d'environ 4,0 à titre de référence [24,25]. Le chitosane est également soluble dans l'acide chlorhydrique à 1% mais insoluble dans les acides sulfurique et phosphorique. La solubilité du chitosane dans les acides inorganiques est assez limitée. Des solutions d'acide acétique concentrées à haute température peuvent provoquer une dépolymérisation du chitosane [26]. Au-dessus de pH 7,0, la solubilité du chitosane est médiocre. À pH élevé, la précipitation ou la gélification a tendance à se produire et la solution de chitosane forme un complexe poly-ion avec un hydrocolloïde anionique, ce qui entraîne la formation d'un gel [27].

I.2.2.1.d. Viscosité

La viscosité du chitosane dépend du DD de ce polymère. Plus il est désacétylé, plus il y a de groupements amines libres, plus le chitosane est soluble et par voie de conséquence sa viscosité est plus importante [28]. La viscosité dépend également de la concentration du polymère (elle augmente avec la concentration), de la température (elle chute lorsque la température augmente), du poids moléculaire (la viscosité intrinsèque augmente en fonction de l'augmentation du poids moléculaire) et enfin du pH (plus il est bas plus la viscosité est élevée) [29,30].

I.2.2.2. Propriétés biologiques

Le chitosane présente d'exceptionnelles propriétés biologiques, propriétés qui sont à la fois variées et complémentaires [31].

I.2.2.2.a. Biodégradabilité

La biodégradation du chitosane est assurée par des enzymes qui l'hydrolysent en oligomères. Cependant, le ou les mécanismes d'action ne sont pas encore clairement définis. Chez l'homme et les mammifères, ce rôle est assumé principalement par des lysozymes [32] qui dégradent les liaisons β -(1-4)-Glycosidiques des unités N-acétylglucosamine en des résidus N-acétylglucosamine et D-glucosamine, métabolisés ensuite dans l'organisme. Ainsi, un chitosane avec une valeur de DD égale à 50% est facilement dégradé in vivo (lysozymes) dans le sang et les tissus, sans accumulation dans le corps [33]. La dégradation dépend de l'origine et des propriétés du polysaccharide (DD, masse molaire...). L'influence de la structure cristalline, de l'agrégation des N-acétylglucosamines et de leur distribution a été aussi mise en évidence [34].

I.2.2.2.b. Biocompatibilité

La biocompatibilité d'un polymère est d'une importance capitale pour une utilisation thérapeutique potentielle [35,36]. Elle est caractérisée par trois propriétés principales : sa non toxicité, sa cytocompatibilité et son hémocompatibilité [37,38]. Le chitosane présente l'avantage de réunir également d'autres propriétés très intéressantes, il agit comme un agent bactériostatique et antifongique [39,40].

I.2.2.2.c. Activité antimicrobienne

Le chitosane présente une activité antimicrobienne face aux différents groupes de microorganismes : bactéries, virus, champignons, levures et moisissures [41]. En général, les moisissures et les levures sont les plus sensibles au chitosane suivies des bactéries.

L'activité antimicrobienne du chitosane est influencée par de nombreux facteurs, incluant l'origine biologique du chitosane, le pourcentage de désacétylation (plus le chitosane est désacétylé, plus son activité antimicrobienne est forte), le degré de polymérisation ou le poids moléculaire (plus la concentration en polymères de chitosane est élevée, plus l'activité antimicrobienne est observée), ainsi que le type d'organismes ciblés. La réponse du microorganisme quand a elle, dépend de la structure chimique du chitosane utilisé et des conditions environnementales lors de l'interaction [42]. Plusieurs travaux de recherches sur le mode d'action du chitosane livrent des hypothèses sur les différentes interactions possibles entre les bactéries et le chitosane, et plus généralement sur le rôle antimicrobien de ce polymère [42,43] :

- ✘ Le chitosane, de par sa nature cationique, interagirait avec la paroi cellulaire anionique des microorganismes (interactions électrostatiques) ;
- ✘ Le chitosane adhère facilement aux cellules microbiennes puisque les amines chargées positivement agissent avec les charges négatives sur la membrane des cellules libérant ainsi les constituants intracellulaires [44];
- ✘ Le chitosane pourrait chélater des ions métalliques nécessaires à la croissance microbienne ou à la production de toxines [45] ;
- ✘ Le chitosane interagit avec la membrane des cellules pour altérer sa perméabilité entravant ainsi l'entrée de certains nutriments [42].

I.2.2.2.d. Activité antioxydant

L'utilisation du chitosane comme antimicrobien, notamment dans les filières viandes et poissons, peut être justifié par son pouvoir antioxydant plus récemment identifié [46]. Les mécanismes mis en jeu dans cette activité antioxydante du chitosane et surtout de certains de ses dérivés comme le carboxyméthyl chitosane sont encore assez mal décrits et semblent être liés d'une part au caractère cationique de ces macromolécules et d'autre part à leur pouvoir chélateur [47]. Ainsi le carboxyméthylchitosane en chélatant le fer libre issu des hémoprotéines libérées lors du stockage et/ou de la préparation de la viande va fortement ralentir le pouvoir catalyseur de ces ions sur le rancissement [48]. L'action stabilisatrice des

fonctions amines du chitosane sur les aldéhydes volatiles issus de la dégradation des acides gras insaturés semble également primordiale [49].

I.3. Principales applications

Le chitosane est un biopolymère d'une importance croissante pour l'industrie et qui a des impacts significatifs sur la recherche et le développement dans des domaines aussi variés que la chimie, la biologie [50], la santé ou encore la protection de l'environnement. Ses propriétés exceptionnelles expliquent l'engouement pour cette macromolécule naturelle, extraite des carapaces de crustacés, considérée il y a encore peu comme des déchets. Il s'est avéré que ce coproduit d'origine marine, très bon marché, peut participer à l'élaboration de nombreux produits commerciaux à haute valeur ajoutée et pratiquement, tous les domaines d'applications industrielles, de la pharmacie à l'agroalimentaire, en passant par l'environnement, l'agriculture, le textile, la papèterie et les cosmétiques, sont concernés. Parmi ces domaines, la diététique et le biomédical sont en plein essor [51,52]. Nous présentons ici les plus prometteuses.

I.3.1. Domaines biomédical et pharmaceutique

Les nombreuses propriétés biologiques du chitosane (biocompatibilité, bioactivité...etc.) en font un candidat de choix pour les applications pharmaceutiques, biomédicales et cliniques comme agent antimicrobien, hémostatique, pansement cicatrisant...etc [53]. Il est également utilisé comme un système de libération contrôlée d'agents thérapeutiques par voie orale, transdermique, oculaire et nasale [54]. Il présente en effet de bonnes propriétés muco-adhésives et une absence de toxicité qui le prédispose à des utilisations en thérapie génique et pour la vaccination [55]. Des études récentes tendent à montrer que le chitosane exerce un effet bénéfique sur le renforcement du système immunitaire, le contrôle du niveau de cholestérol et de sucre dans le sang, et prévient le phénomène de vieillissement [56]. Le chitosane est aussi utilisé sous forme d'hydrogels chargés pour immobiliser des médicaments, des enzymes ou encore des substances thérapeutiques comme les vaccins, les gènes ou antigènes [57,58].

I.3.2. Domaine Agricola

Le chitosane est reconnu principalement pour être un éliciter de résistance contre les agents pathogènes chez les plantes ce qui réduit la croissance de champignons phytopathogènes [59]. Le chitosane pourrait devenir l'engrais naturel et le pesticide du futur

en tant que bio-pesticide. Sa présence comme fertilisant accélère la croissance des plantes et améliore le rendement des cultures. En effet, l'enrobage de semences des céréales avec le chitosane leur permettent de résister aux attaques de champignons et de bactéries pathogènes [60]. De plus, le chitosane permet de conserver les aliments pour bétail et protège les animaux contre des problèmes bactériologiques ou viraux. Il permet également de lutter contre les infections respiratoires qui affectent les troupeaux bovins [61].

I.3.3. Domaine agroalimentaire

Dans les industries alimentaires, l'utilisation du chitosane n'est pas encore généralisée, à l'exception des pays asiatiques comme le Japon où de nombreux produits alimentaires enrichis en chitosane (nouilles, pâte de soja) sont trouvés [62]. Aux Etats-Unis, le chitosane est utilisé comme ingrédient fonctionnel et comme film comestible pour protéger les aliments [63]. En Europe, la réglementation sur l'utilisation du chitosane dans le domaine alimentaire est encore restrictive, il est utilisé comme un complément alimentaire [61].

I.3.4. Domaine Alimentaire

Le chitosane est utilisé dans le domaine alimentaire pour différents besoins comme agent de préservation, agent émulsifiant, agent de texture ou supplément diététique. Grâce à ses propriétés antibactériennes, il s'est montré efficace pour éliminer les bactéries pathogènes très présentes dans le domaine alimentaire (*Salmonella*, *E.coli* et *Listeria*). La chitine partiellement désacétylée est utilisée d'une part pour désacidifier les extraits de café, les jus de fruits ou de légumes, et d'autre part pour conserver la nourriture du fait de sa capacité à immobiliser les cellules microbiennes ou fongiques [64,65].

I.3.5. Domaine Cosmétique

Les propriétés filmogènes et cationiques du chitosane sont exploitées dans de nombreuses crèmes ou lotions de soin pour les cheveux ou la peau. Il a aussi la capacité de maintien de l'humidité de la peau, du traitement de l'acné, de l'amélioration de la souplesse des cheveux et de la réduction de l'électricité statique dans les cheveux [66].

I.2.3.6. Environnement

Traitement de l'eau potable (coagulation/floculation, filtration, absorption) [67].

- Traitement des eaux usées (coagulant) [68].
- Traitement des eaux de piscine (agent chélatant de cations).
- Chélation des métaux toxiques et radio-isotopes.
- Récupération de métaux réutilisables.

- Agent de déshydratation des boues.

I.3. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons défini, c'est quoi la chitine et la chitosane et ses structures chimiques qui lui donnent des propriétés spécifiques pour leurs utilisations et applications à la vie quotidienne. Comme j'ai discuté les méthodes d'extraction de ces derniers à partir des déchets alimentaires par voie chimique qui se déroule en trois phases : Une déminéralisation pour éliminer les minéraux, une élimination des protéines par une déprotéinisation suivi par une désacétylation pour obtenir le chitosane, et une phase facultative de décoloration (blanchiment) pour éliminer les pigments.

Références Bibliographiques

- [1]. Kauffman G.B.**, Chitin and chitosan, versatile polysaccharides from marine animals, *J. Chem. Educ.*, **1990**, 67: pp. 938.
- [2]. Tolaimate.A; J. Desbrières; M. Rhazi; A. Alagui; M. Vincendon et P. Vottero**, On The Influence of Deacetylation Process on The Physicochemical Characteristics of Chitosan from Squid Chitin, *Polymer*, **1999**, pp. 2463-2469.
- [3]. Aranaz.I; Mengibar.M; Harris.R; Panos.I; Miralles.B; Acosta.N; Galed. G et Heras. A**, Functional characterization of chitin and chitosane, *Current Chemical Biology*, **3**, **2009**, pp.203-230.
- [4]. Holy N.R ; Michel P & Philippe D**, Les polymères issus du végétal : matériaux à propriétés spécifiques pour des applications ciblées en industrie plastique, **2006**, pp.185-196.
- [5]. K. Kurita**, Chitin and chitosane : functional biopolymers from marine crustaceans, *Mar. s.l. :Biotechnol*, **2006**, 8, pp. 203.
- [6]. Tolaimate A; Desbrieres J; Rhazi M; Alagui A**, Contribution to the preparation of chitins and chitosans with controlled physico-chemical properties, *Polymer. s. l : PISSN 0032-3861*, **2003**, (44), pp. 7939–7952.
- [7]. M. Rinaudo**, Chitin and chitosan: Properties and applications, *s.l. :Prog Polymer Sci*, **2006**, 31, pp. 603–632.
- [8]. Bastiaens. L; Soetemans. L; D'Hondt. E et Elst. K**, Sources of Chitin and Chitosan and their Isolation, *s.l. : Chitin and Chitosan*, **2019**, pp. 1–34.
- [9]. El Knidri. H; Belaabed.R; Addaou.A; Laajeb. A et Lahsini. A**, Extraction, chemical modification and characterization of chitin and chitosane, *International Journal of Biological Macromolecules*, **2018**, 120, pp. 1181–1189.

- [10]. **Chen; Cheng-Ho et al**, Deacetylation of β chitin. I. Influence of the deacetylation conditions, *Journal of Applied Polymer Science* 93.5, **2004**, pp. 2416-2422.
- [11]. **Tolaimate. A; J. Desbrières; M. Rhazi; A. Alagui; M. Vincendon et P. Vottero**, On The Influence of Deacetylation Process on The Physicochemical Characteristics of Chitosan from Squid Chitin, *Polymer*, **1999**, pp. 2463-2469.
- [12]. **Ravi K; M. N. V**, A Review of Chitin and Chitosan Applications. Reactive and Functional polymers, **2000**, pp. 1-27.
- [13]. **Aiba. S**, Studies on Chitosan: Determination of the Degree of Nacetylation of Chitosan by Ultraviolet Spectrophotometry and Gel Permeation Chromatography, *International Journal of Biological Macromolecules*, **1986**, pp. 173-176.
- [14]. **Marinard Biotech**, Production du chitosan à partir de co-produits de crevette. Proc. Les coproduits marins des usines de transformation : une valeur à exploiter, *Rencontres technologiques du Centre Québécois de valorisation des biotechnologies*, Québec, **2003**.
- [15]. **Shahidi. F**, Chitin and chitosane from marine by-products. In: Maximising the value of marine by-products, *Shahidi F. Ed. Woodhead Publishing*, **2007**, pp. 340-373.
- [16]. **Ospina; Sandra et al**, Comparison of extraction methods of chitin from Ganoderma lucidum mushroom obtained in submerged culture, *BioMedResearch International*, **2014**, pp. 169071-169078.
- [17]. **LeRoux. K**, Rapport d'avancement de thèse : « Application de l'hydrolyse enzymatique pour l'extraction de la chitine », *Documentation interne Ifremer*, **29/10/2009**, pp. 53-60.
- [18]. **A. C. M. Wu ; W. A. Bough; M. R. Holmes et B. E. Perkins**, Influence of manufacturing variables on the characteristics and effectiveness of chitosan products. III. Coagulation of cheese whey solids, *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 20, no 12, **1978**, pp. 1957-1966.
- [19]. **N. Pareek; V. Vivekanand; S. Saroj; A. K. Sharma et R. P. Singh**, Purification and characterization of chitin deacetylase from *Penicillium oxalicum* SAEM-51, *Carbohydrate Polymers*, vol. 87, no 2, **2012**, pp. 1091-1097.
- [20]. **A. Tolaimate; J. Desbrières; M. Rhazi et A. Alagui**, Contribution to the preparation of Chitins and chitosans with controlled physico-chemical properties, *Polymer*, vol. 44, no 26, **2003**, pp. 7939-7952.
- [21]. **W. Arbia; L. Arbia; L. Adour et A. Amrane**, Chitin extraction from crustacean shells using biological methods -A review, *Food Technology and Biotechnology*, vol. 51, no 1, **2013**,

pp. 12-25.

[22]. **A. K. Pate; P. Michaud; H. de Baynast; M. Grédiac et J.D. Mathias**, Preparation of chitosan-based adhesives and assessment of their mechanical properties, *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 127, n° 5, **2013**, pp. 3869-3876.

[23]. **Blackwell J**, chitin In: Biopolymers, *Walton AG, Blackwell J, eds. New York: Academic Press* 474, **1973**.

[24]. **Kurita K**, Chitin and chitosan: functional biopolymers from marine crustaceans, *Marine Biotechnology*, 8, **2006**, pp. 203-226.

[25]. **Abdulhadi Aljawish**, Fonctionnalisation enzymatique du chitosane par des composés phénoliques : évaluation des propriétés biologiques et physicochimiques de ces nouveaux bio polymères, *Thèse de doctorat. Université de Lorraine*, **2013**.

[26]. **G.A.F. Roberts**, Structure of chitin and chitosan. In: Chitin chemistry, *edited by G.A.F. Roberts. Mac Millan Press. Houndmills*, **1992**, pp. 1-53.

[27]. **PR. Austin**, Chitin solvents and solubility parameters in: Chitin and chitosane and related enzymes, *Zikakis J P, ed. Orlando: Academic Press*, **1984**, p 227.

[28]. **W. Wang et D. Xu**, Viscosity and flow properties of concentrated solutions of chitosan with different degree of désacétylation, *Int. J. Biol. Macromol*, 16 (3), **1994**, pp. 49-152.

[29]. **R. H .Chen. Et M. L. Tsaih**, Effect of temperatures on the intrinsic viscosity and conformation of chitosan in dilute HCl solution, *Int. J. Biol. Macromol*, 23, **1998**, pp. 135-141.

[30]. **G. Berth; H. Dautzenberg et M. G. Peter**, Physico-chemical characterization chitosans varying in degree of acetylation, *Carbohydrate Polymers*, 36, **1998**, pp. 205-218.

[31]. **Ye. M; Neetoo. H et Chen. H**, Effectiveness of chitosan-coated plastic films incorporating antimicrobials in inhibition of *Listeriamonocytogenes* on cold-smoked salmon, *International Journal of Food Microbiology*, 127(3), **2008**, pp. 235-240.

[32]. **Chen. SC; Lu. Y**, Micro and nano-fabrication of biodegradable polymers for drug delivery, *Adv. Drug Delivery Rev*, **2004**, pp. 1621–1633.

[33]. **C. Chatelet; O. Damour et A. Domard**, Influence of the degree of acetylation on some Biological properties of chitosan Films, *Biomater*, 22, **2001**, pp. 261-268.

[34]. **Xuan Jiang; Lirong Chen; WeiZhong**, A new linear potentiometric titration method for the determination of deacetylation degree of chitosane, *Carbohydrate Polymers*, 54, **2003**, pp. 457-463.

[35]. **Annadurai. G; Juang.R S; Lee. D L**, Use of cellulose-based wastes for adsorption of dyes from aqueous solutions, *Journal of Hazardous Materials*, 92:3, **2002**, pp. 263-274.

- [36]. **Crini G; Badot P M**, Application of chitosan, a natural aminopolysaccharide, for dye removal from aqueous solutions by adsorption processes using batch studies: A review of recent literature, *Progress in Polymer Science*, 33, **2008**, pp. 399-447.
- [37]. **Zhang G; Yi L; Deng H; Sun P**, Dyes adsorption using a synthetic carboxymethyl cellulose-acrylic acid adsorbent, *Journal of Environmental Sciences*, 26 (5), **2014**, pp. 1203-1211.
- [38]. **Mahdavinia G; Massoudi A; Baghban A; Massoumi B**, Novel carrageenan-based hydrogel nanocomposites containing laponite RD and their application to remove cationic dye, *Iranian Polymer Journal*, 21, **2012**, pp. 609-619.
- [39]. **Salgueiro A. M; Daniel-da-Silva A. L; Girao A V; Pinheiro P C; Trindade T**, Unusual dye adsorption behavior of K-carrageenan coated superparamagnetic nanoparticles, *Chemical Engineering Journal*, 229, **2013**, pp. 276-284.
- [40]. **Yang Y; Wei X; Wan J**, Preparation, characterization and adsorption performance of a novel anionic starch microsphere, *Molecules*, 15(4), **2010**, pp. 2872-2885.
- [41]. **Fernandez-Saiz. P; Soler. C; Lagaron J. M et Ocio M. J**, Effects of chitosane films on the growth of *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. in laboratory media and in fish soup, *International Journal of Food Microbiology*, 137(2-3), **2010**, pp. 287-294.
- [42][36]. **Crini G. et Badot P.**, Application of chitosan, a natural amino polysaccharide, for dye removal from aqueous solutions by adsorption processes using batch studies: A review of recent literature, *Polymer. Science*, 33, **2008**, pp. 399-447.
- [43]. **Gomez-Estaca J; Lopez de Lacey A; Gomez-Guillen M.C; Lopez-Caballero M.E et Montero P**, Antimicrobial Activity of Composite Edible Films Based on Fish Gelatin and Chitosan Incorporated with Clove Essential Oil, *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 18(1), **2009**, pp. 46-52.
- [44]. **Kim S.K. et Mendis E**, Bioactive compounds from marine processing byproducts. A review, *Food Research International*, 39, **2006**, pp. 383-393.
- [45]. **T. Khan A; Peh. K. K & C'ing**, Mechanical bioadhesive strength and biological evaluation of chitosan films for wound dressing, *Journal of Pharmaceutical and Pharmaceutical Science*, 3(3), **2000**, pp. 3003-3371.
- [46]. **Hafsa. J; Smach. M. A; Charfeddine. B; Limem.K; Majdoub.H & Rouatb. S**, Antioxidant and antimicrobial properties of chitin and chitosan extracted from *Parapenaeus Longirostris* shrimp shell waste, *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 74(1), **2016**, pp. 27-33.

- [46]. Prabu. K; Natarajan. E, In vitro antimicrobial and antioxidant activity of chitosan isolated from *Podophthalmus Vigil*, *J Appl PharmaSci*, 2(9), 2012, pp. 75—82.
- [47]. Xie W; Xu P; Liu Q, Antioxidant activity of water-soluble chitosan derivatives, *Bio org Med Chem Lett*, 11, 2001, pp. 1699-1701.
- [48]. Yen MT; Tseng YH; Li RC; Mau JL, Antioxidant properties of fungal chitosan from shiitake stipes, *Food SciTechnol Int*, 40, 2004, pp. 255- 261.
- [49]. Yen MT; Yang J; Mau J, Antioxidant properties of chitosan from crab shells, *Carbohydr Polym*, 74, 2008, pp. 840- 844.
- [50]. Crini G. ; Badot P.M. et Guidal E, Chitine et chitosane. Du biopolymère à l'application, *Presses universitaires de Franche-Comté*, 2009, pp. 308-325.
- [51]. Ravi Kumar M.N.V, A review of chitin and chitosan applications, *Reactive and Functional Polymers*, 46, 2000, pp. 1-20.
- [52]. G. Jak. winterowd and A. Paul. Sandford, Chitin and chitosane, edited by Alistair.M.Stephen. Food polysaccharides and their application, *Edition Marcel. Dekker*, NewYork, 1995.
- [53]. Zhang. J; Xia.W; Liu.P; Cheng.Q; Tahirou. T; Gu. W et Bo L, Chitosan modification and pharmaceutical/biomedical applications, *Marine drugs*, 8, 2010, pp. 1962-1987.
- [54]. Rauch. F; Dornish. M, Chitosan in: An introduction to biomaterials, *Guelcher SA, Hollinger JO, eds. CRC press*, 14, 2006, pp. 249-255.
- [55]. Jayakumara R; Menona D; Manzoora NK; Naira SV; Tamurab H, Biomedical applications of chitin and chitosan based nanoma-terials, *Carbohydr Polym*, 82, 2010, pp. 227-232.
- [56]. Felse PA; Panda T, Studies on applications of chitin and its derivatives, *Bioprocess Eng*, 20, 1999, pp. 505-512.
- [57]. Shahidi F; Arachchi JKV; Jeon YJ, Food applications of chitin and chitosane, *Trends Food SciTechnol*, 10, 1999, pp. 37-51.
- [58]. A. Youcefi et F Riazi, Extraction, Physicochemical Characterization and in Vitro Antioxidative Potential of Chitosan in Shrimp Shell Waste from BeniSaf Sea, Algeria, *s.l. : International Journal of Science and Research*, 3, 2012, pp. 955-959.
- [59]. Ospina; Sandra et al, Comparison of extraction methods of chitin from *Ganoderma lucidum* mushroom obtained in submerged culture, *BioMed Research International*, 2014, pp. 169071-169078.

- [60]. **Flores; Ronny**, Chitin sponge, extraction procedure from shrimp wastes using green chemistry, *Journal of Applied Polymer Science* 104.6, **2007**, pp. 3909-3916.
- [61]. **Chen; Cheng-Ho et al**, Deacetylation of β -Chitin. I. Influence of the deacetylation conditions, *Journal of Applied Polymer Science* 93.5, **2004**, pp. 2416-2422.
- [62]. **Grégorio Crini ; Pierre-Marie Badot ; Éric Guibal**, Chitine et chitosane: du biopolymère à l'application, *Presses universitaires de Franche-Comté*, **2009**.
- [63]. **Crini G**, Non-conventional low-cost adsorbents for dye removal: A review, *Bioresource Technology*, 97, **2006**, pp. 1061-1085.
- [64]. **Fan. W; Sun. J; Chen.Y; Qiu.J; Zhang. Y and Chi. Y**, Effects of chitosane coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage, *FoodChemistry*, 115(1), **2009**, pp. 66-70.
- [65]. **Koide S.S**, Chitin and chitosan: properties, benefits and risks, *Nutrition Research*, 6, **1998**, pp. 1091-1111.
- [66]. **Casadidio. C; Peregrina.D V; Gliobianco.M R; Deng.S; Censi. R et Martino P**, Chitin and Chitosans: Characteristics, Eco-Friendly Processes, and Applications in Cosmetic Science, *Mar. Drugs*, 17, **2019**, pp. 369-375.
- [67]. **Peter M.G**, Applications and environmental aspects of chitin and chitosane, *J. Macromol. Sci. Pure Appl. Chem.*, A32, **1995**, p 629.
- [68]. **Crini G ; Badot P.M ; Morin-Crini N**, Traitement des eaux par du chitosane : intérêts, méthodes et perspectives, re126, 2, **2009**.

Chapitre II
Glucosamine et leurs dérivés

II. Introduction

Les sucres aminés, abondants dans le milieu naturel, sont connus pour former des complexes avec les ions métalliques, et sont souvent combinés dans des polysaccharides ou des monosaccharides d'origine animale ou végétale et jouent un rôle important dans les processus physiologiques. Les sucres aminés contenus dans les parois cellulaires des plantes assurent le transfert des ions métalliques vitaux pour leur croissance [1,2]. De plus, ils sont souvent associés à des composés organiques contenus dans les sols tels les acides humiques [3] et interviennent dans le processus d'assimilation des métaux par les plantes.

La *D*-Glucosamine notre composé de base pour cette recherche est un produit naturellement synthétisé par l'organisme[4], elle joue un rôle prépondérant dans le maintien de l'intégrité du cartilage de l'ensemble des articulations. Pour modifier sa propriété pharmacologique, nous avons synthétisé des nouvelles séries de β -*D*-Glucosamines.

Cherchons dans la littérature les différentes méthodes de griffage des groupements protecteurs au β -*D*-glucosamine chlorhydrate a fin de choisi une pour la synthèse de certains composés de imine dérivés de la β -*D*-glucosamine.

II.1. Historique

La glucosamine a été préparée pour la première fois en **1876** par Georg Ledderhose par l'hydrolyse de la chitine avec de l'acide chlorhydrique concentré[5-7]. La stéréochimie a été déterminée en **1939** par Walter Haworth[8]. En 1969, des médecins allemands faisaient état pour la première fois de l'utilisation clinique de la glucosamine pour traiter des patients souffrant d'arthrose. La substance thérapeutique était alors injectée directement dans les articulations atteintes ou administrée par voie intraveineuse ou intramusculaire. À la fin des années **1970**, une firme italienne (*Rotta Research Laboratorium*) a mis au point des comprimés de sulfate de glucosamine, ce qui facilitait l'administration de cette substance. D'abord très populaire en Europe, la glucosamine a gagné les faveurs du public nord-américain, si bien que, en 1998, plus d'un milliard de capsules ont été vendues aux États-Unis. En **2006**, une étude clinique réalisée sur 1583 personnes par une équipe de chercheurs américains a porté sur l'efficacité de la prise de GlcN et/ou de chondroïtine seul ou en association contre un placebo [9]. Une étude récente européenne, l'étude GUIDE, menée sur 318 sujets, revendique également les effets bénéfiques de la GlcN sur les douleurs articulaires [10].

II.2. Généralité sur les hétérocycles de types Osamines

La glucosamine est un glucide de la famille des osamines dont la structure est basée sur celle du glucose. La glucosamine est un précurseur utilisé pour la glycosylation des protéines et des lipides. C'est également un composant important de plusieurs polysaccharides, en particulier la chitine, constituant majeur de la cuticule ou carapace des arthropodes (insectes, crustacés...etc.). Dans la molécule de glucosamine, le carbone en position 2 (2C) ne porte pas de fonction alcool mais une fonction amine primaire (-NH₂) orientée de la même façon sur le carbone asymétrique. (Figure. II.1).

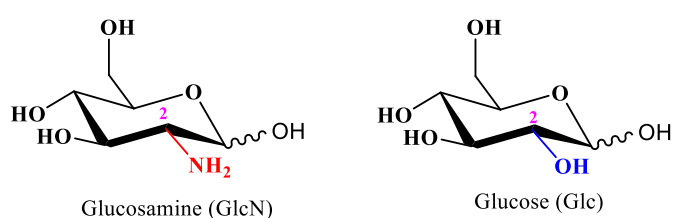


Figure. II.1. Structure chimique de la Glucosamine et du Glucose

Dans les [cellules](#) vivantes, la glucosamine est synthétisée sous forme de glucosamine-6-phosphate, à partir du [fructose-6-phosphate](#) et de la [glutamine](#). La glucosamine (GlcN) est classée parmi les agents dits chondroprotecteurs. Il s'agit d'une amine glycosylée que l'on trouve à l'état naturel dans le corps. Elle est utilisée comme substrat pour la synthèse des glycosaminoglycans et des protéoglycans de la matrice du cartilage articulaire. La GlcN peut être obtenue de façon naturelle par extraction de la chitine, qui provient surtout d'invertébrés marins (carapaces de crevettes, de crabes, de homards... etc. Elle peut aussi être synthétisée [11]. Elle se présente généralement sous la forme de sulfate de glucosamine (HSO₃GlcN) [12](figure. II.2).

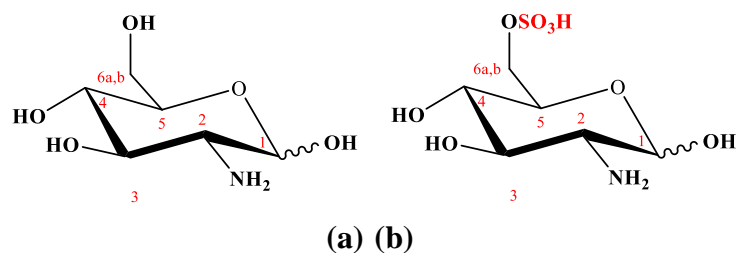


Figure. II.2. Structure de D-Glucosamine (a) et de sulfate de D-Glucosamine (b).

0-IFigure. 1.2. Structure de D-Glucosamine (a) et de sulfate de D-Glucosamine (b).

Les osamines vraiment intéressantes du point de vue chimique et biologique sont les hexosamines, les dérivés du glucose ou du galactose par substitution sur le carbone 2C, la plus connue est la glucosamine obtenu à partir du glucose, par la même substitution on obtient la galactosamine [13] ou la mannosamine [14] , à partir du galactose ou du mannose, la méglumine (D-N-Méthylglucamine) [15] quant à elle est dérivée du sorbitol dans lequel le groupe hydroxyle en position 1 H est remplacé par un groupe méthylamine (figure. I.2).

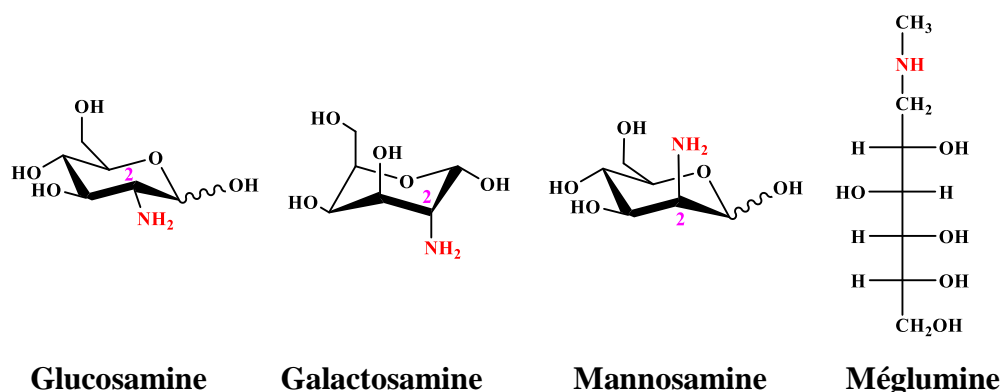


Figure. I.3. Structures chimiques des isomères des chaînes de la D-Glucosamine

Les deux oses aminés les plus fréquemment rencontrés en biologie sont la **D-mannosamine**(ManN) et la D-galactosamine(GalN), mais la **D-glucosamine** est plus utilisé en chimie moléculaire. Ces oses sont particulièrement abondants dans les glycoconjugués . En parallèle aux D-glucosamine, existe le groupe des amino-désoxy-glucoses qui englobe des molécules aminées dérivées du glucose dans lesquelles au moins un hydroxyle autre que celui du carbone anomérique est remplacé par un groupe amine. Ces molécules sont fréquemment rencontrées dans les êtres vivants. La glucosylamine, l' amino-3-désoxy-3-D-glucose ou kanosamine, l' amino-4-désoxy-4-D-glucose et l' amino-6-désoxy-6-D-glucose sont les plus simples de la série.

II.2.2.D-glucosamine chlorhydrate

D-glucosamine chlorhydrate (GlcNH₂.HCl), endogène synthétisé à partir de glucose qui est utile dans le traitement de maladies des articulations chez les humains et les animaux[16]. La glucosamine chlorhydrate a été choisi à la place de sulfate de glucosamine pour un certain nombre de raisons[17. La forme de chlorhydrate est plus concentrée que la forme de sulfate, et la forme de chlorhydrate contient sensiblement moins de sodium par dose efficace que la forme de sulfate. Le sulfate de glucosamine est stabilisé avec du chlorure de

sodium (NaCl) et peut contenir jusqu'à 30% de sodium. Ceci est une considération pour les personnes qui veulent réduire leur apport alimentaire en sodium. La glucosamine chlorhydrate offre la promesse de la même efficacité que le sulfate de glucosamine, la glucosamine est pas absorbé intact avec son transporteur. Le corps ne se soucie pas comment il arrive glucosamine tant qu'il est biodisponible [18,19].(figure.II.4).

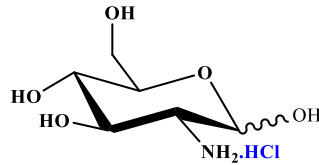


Figure. II.4 .Structure de D-Glucosamine chlorhydrate

Pratiquement toutes les recherches scientifiques portent sur le sulfate de glucosamine. C'est pourquoi la plupart des marques l'utilisent sous cette forme, y compris la quasi-totalité des marques qui ont enregistré la glucosamine comme médicament.

La glucosamine chlorhydrate de est une forme légèrement plus douce. Il y a eu peu de recherches au sujet du glucosamine chlorhydrate qui semble un peu moins efficace dans la pratique.

Grâce à sa forme plus douce, la glucosamine chlorhydrate a l'avantage de provoquer moins de réactions d'hypersensibilité gastro-intestinale. Le sulfate de glucosamine provoque des réactions d'intolérance gastro-intestinale chez environ **3-5%** des utilisateurs, lesquels devraient peut-être préférer la glucosamine chlorhydrate .Il importe de faire la distinction entre les diverses formes de glucosamine car elles n'ont pas nécessairement toutes les mêmes effets [20].

II.3. Voie de synthèse de glucosamine:

La glucosamine peut être obtenue de façon naturelle par extraction de la chitine, qui provient surtout d'invertébrés marins (carapaces, crevettes, crabes, homards et céphalopodes...etc.). Elle peut aussi être synthétisée [21].

La glucosamine peut être synthétisée à partir de chitine et de chitosane par hydrolyse chimique ou enzymatique. L'hydrolyse enzymatique présente des limites majeures du coût élevé de l'enzyme, de l'instabilité enzymatique et de l'hydrolyse incomplète de la glucosamine monomère. En approche chimique, en présence d'acide chlorhydrique concentré, on effectue deux réactions catalysées par l'acide, c'est-à-dire la dépolymérisation et les désacétylation de

la chitine et du chitosane, qui convertissent ces polymères en chlorhydrate de glucosamine [22].

De nombreux facteurs incluant la concentration d'acide, l'acide à la chitine (ou au chitosane), La température de réaction et le temps de réaction affectent le rendement en chlorhydrate de glucosamine. La glucosamine commercialisée est dérivée de la chitine, un polymère présent dans l'exosquelette des céphalopodes et/ou crevettes [23,24], le procédé de fabrication du Glucosamine à partir de la chitine et chitosane (Figure.II.5).

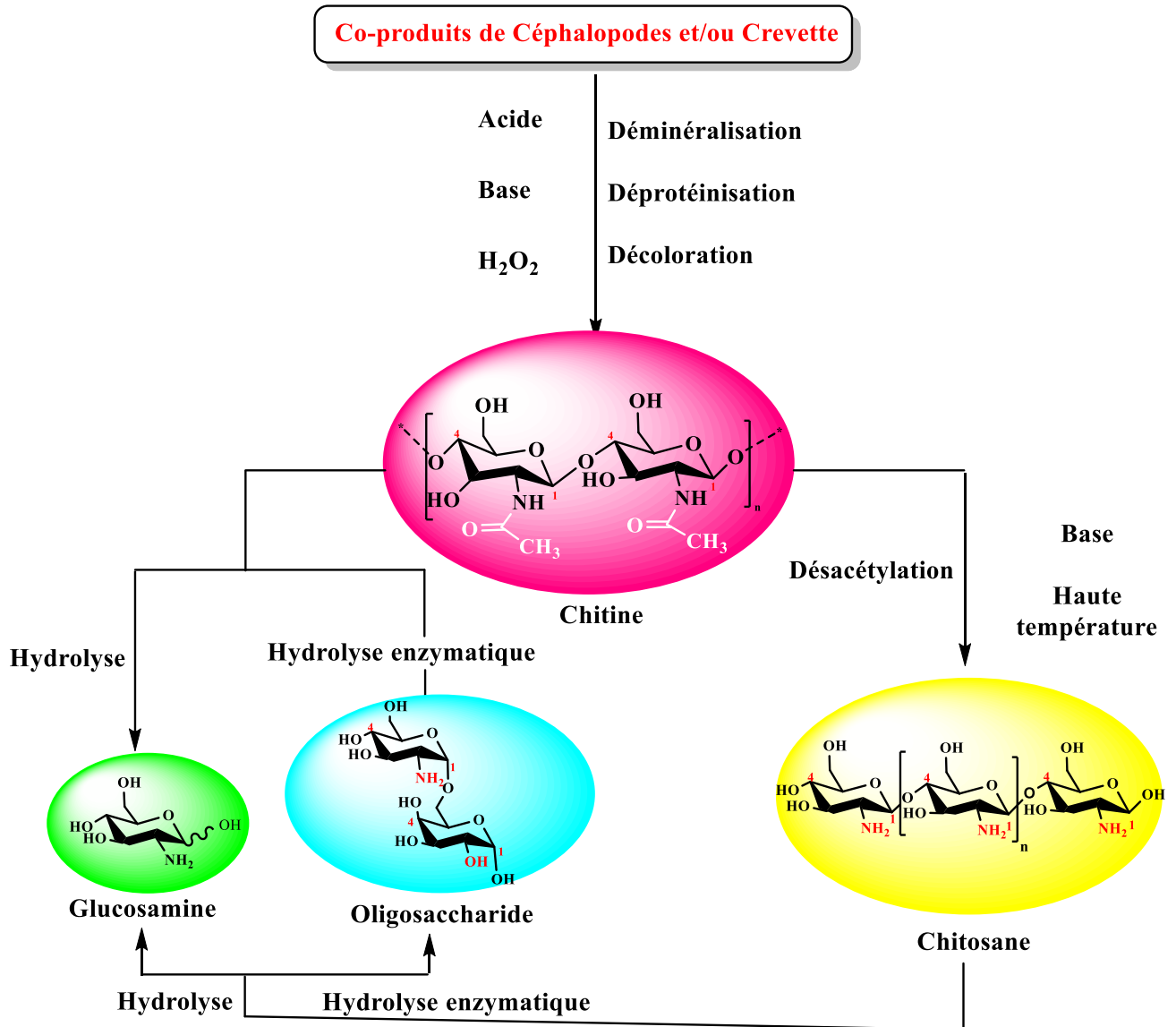


Figure. II.5. Synthèse du Glucosamine à partir de la chitine et du chitosane (Marinard Biotech, 2003)

Les osamines doivent être sous une forme activée afin de participer à la construction des molécules complexes comme les mucopolysaccharides (MPS). Ils cumulent les propriétés des oses (réducteurs, formation de cycle,...etc.) et des amines (basique).

On les trouve dans :

⊕ les polymères : Chitine et chitosane sont des copolymères linéaires, aléatoires, de glucosamine et de *N*-acétyl-glucosamine. Ils se différencient surtout par leur degré d'acétylation (DDA), qui rend compte de leur degré de solubilité. Leur structure est très proche de celle de la cellulose [25].

Quelques 10 000 publications récentes, dont plusieurs livres traitent des multiples applications recensées ou potentielles de ces composés (chitine, chitosane et Glucosamine), considérés comme une des plus prometteuses bio-ressources.

I.4. Propriétés physiques et chimiques de la glucosamine

Les différentes propriétés physico-chimiques de la glucosamine à été regroupe dans le tableau ci-dessous (**Tableau. II.1**):

Noms	
Nom de l'UICPA	
(3R,4R,5S)-3-Amino-6-(hydroxyméthyl)oxane-2,4,5-triol	
2-Amino-2-déoxy-D-Glucose	
Autres noms :2-Amino-2-déoxy-D-Glucosamine	
2-amino-2-déoxy-D-Glucopyranose	
D-(+)-Glucosamine	
Synonymes : Chitosamine	
Symbole : GlcNH ₂	
Propriétés	
Formule chimique :	C ₆ H ₁₃ NO ₅
Masse molaire	179.17 g·mol ⁻¹
Densité :	1.563 g/mL
Point de fusion :	150 °C
log P ou Log Kow (Mesure de la solubilité)* :	-2.175
Acidité (pK_a) à 37°C :	12.273
Basicité (pK_b) à 37°C :	1.724
* LogP = Log(C _{solvant} /C _{eau})	

Tableau .II.1. Propriétés physico-chimiques de la glucosamine[26]

Le pKa de la glucosamine est donc très favorable à une absorption au niveau de l'intestin grêle et lui permet de traverser facilement les barrières biologiques du corps. Par contre dans l'estomac la glucosamine existe sous une forme très polaire, ce qui constitue un obstacle au passage à travers les membranes cellulaires [27] [28]. Donc ces molécules présentent toutes les propriétés chimiques des oses (pouvoir réducteur, cyclisation, mutarotation...etc.) auxquelles s'ajoutent celles de l'amine primaire (équilibre acido-basique, formation d'amides (NH-C=O) avec les anhydrides et halogénures d'acyles...etc., qu'ils portant des liaisons carbonyles.

II.4.1. Propriétés conformationnelles

II.4.1.1. Formes anomères (α/β)

La glucosamine est un carbohydrate aminé qui possède différentes conformations. Un équilibre existe entre sa forme ouverte et ses formes cycliques anomères α et β . La forme α est celle où le groupement OH du carbone anomérique 1C est du côté opposé au groupement CH₂OH en 5C et la forme β qui est celle où le groupement OH en 1C est du même côté. Le passage d'un anomère à un autre par l'ouverture du cycle est un phénomène spontané appelé mutarotation (**Figure .II.6**). Pour représenter un ose sous sa forme linéaire, nous adoptons généralement la représentation de Fischer. Dans le cas des formes cycliques, la représentation sous forme chaise peut être employée.

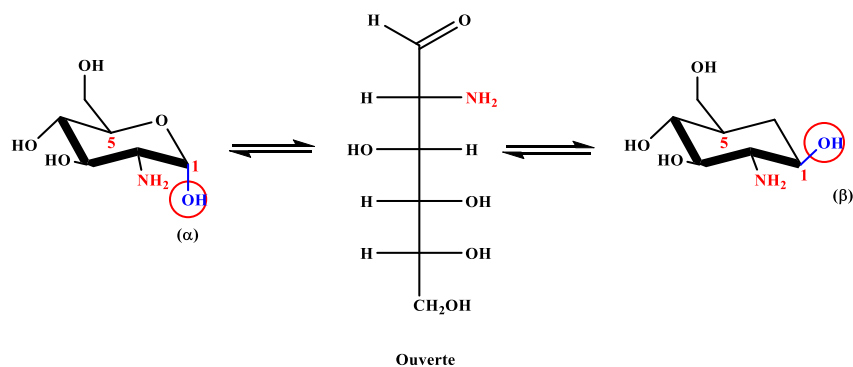


Figure. II.6. Mutarotation entre les formes α , ouverte et β de la D-Glucosamine

Plusieurs études ont montré que les formes anomériques de la glucosamine ou de monosaccharides tels que le glucose pouvaient être identifiées et séparées en HPLC [29-30] ou en électrophorèse capillaire. Ces études ont permis de déterminer les proportions de chacune des formes en équilibre. Ainsi, alors que dans le cas du glucose il a été montré que la forme prédominante est la forme β (64 %), suivie de la forme α (36 %) et de la forme linéaire (<0.1

%) ,dans le cas de la glucosamine, une étude en électrophorèse capillaire après dérivation de la glucosamine par la fluorescamine [31]a montré que la forme prédominante est la forme α . Ces proportions sont toutefois dépendantes des conditions de pH et de température utilisées.

II.4.1.2. Formes pyranose et furanose

Lorsqu'elle se cyclise, la glucosamine peut se trouver sous forme pyranose (cycle à 6 chaînons), qui est la forme la plus stable, ou sous forme furanose (cycle à 5 chaînons). L'équilibre est majoritairement déplacé vers la formation de la forme pyranose. Une autre représentation des formes cycliques est généralement employée pour mettre en évidence ces deux conformères : il s'agit de la représentation de Haworth. Sur la **figure. II.7** sont représentées les formes pyranoses (représentation chaise et représentation de Haworth) et la forme furanose (représentation de Haworth) de l' α -D-glucosamine.

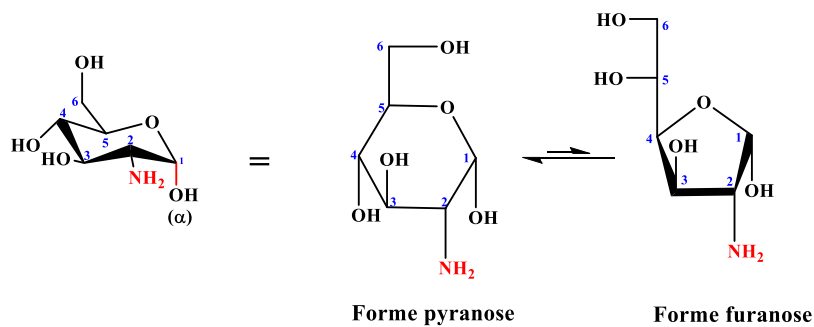


Figure. II.7. Equilibre entre les formes pyranose et furanose de l' α -D-glucosamine

Par conséquent, la glucosamine possède différents isomères dont la conformation et la proportion sont à prendre en compte lorsque l'on veut complexer la glucosamine. Dans le cas où un seul isomère est requis pour effectuer une réaction, il est possible de bloquer une conformation en protégeant le groupement hydroxyle du carbone anomérique par un groupement méthyle.

II.5. Domaines d'application de la D-Glucosamine

Les principaux domaines explorés sont l'agriculture, l'alimentation, la médecine et la chirurgie, les biotechnologies et les textiles, la cosmétique, le traitement des eaux, les polymères et leurs applications...etc.[32].

⊕ **les parois des cellules** (peptidoglycane ou muréine ou mucocomplexe, ou mucopeptide) [33,34]:forme la

[paroi bactérienne](#) des bactéries à [Gram positif](#) et à [Gram négatif](#), maintenant la forme des cellules et assurant une protection mécanique contre la pression osmotique [35].

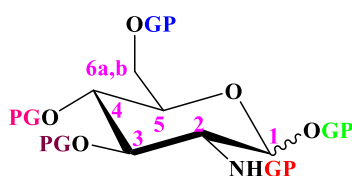
⊕ **les glycoprotéines** est une protéine portant un ou plusieurs groupements oligosaccharides. C'est un hétéroside (composé de plusieurs oses différents [36] dont le premier motif glucidique est fixé de façon covalente à la chaîne polypeptidique).

II.6.1. Utilisations de *D*-glucosamine au médecin

La glucosamine est utilisée pour lutter contre les symptômes de l'arthrose [37] lorsque celle-ci est légère ou modérée. La glucosamine permet en effet de soulager les douleurs et de rendre une partie de la mobilité aux articulations touchées. Elle est surtout employée en cas d'arthrose du genou mais également en cas d'arthrose de hanche (elle se révèle peut efficace en cas d'arthrose vertébrale). De plus, la glucosamine est utilisée pour ralentir l'évolution de l'arthrose. Dans certains cas, elle permet d'éviter une intervention chirurgicale visant à mettre en place une prothèse. On l'utilise pour accélérer la guérison chez les athlètes ayant été victimes d'une blessure articulaire (notamment au niveau du genou). Ces mécanismes expliqueraient également que la glucosamine puisse faire régresser la maladie. La biodisponibilité [38] de la glucosamine n'est que de **26%** lorsqu'elle est administrée par voie orale. En tant que complément alimentaire, la glucosamine peut être employée en toute tranquillité car elle est réputée sans danger (elle présente moins d'effets indésirables que les anti-inflammatoires non stéroïdiens AINS) [39].

II.6.2. Utilisation de la *D*-Glucosamine en synthèse Organique

Lors d'une synthèse organique, plusieurs groupes protecteurs peuvent être présent simultanément sur la *D*-glucosamine. La stratégie de synthèse choisie va nécessiter la déprotection sélective et successive des différentes fonctions. Plusieurs travaux qui étudient les réactions de protection de *D*-Glucosamine avec différents groupements protecteurs pour l'objet de protéger la fonction amine primaire (**NH₂**) et/ou les quatre groupements hydroxyles (**1H**, **3H**, **4H** et **6H**). Cette modification peut en effet permettre d'améliorer leurs propriétés physico-chimiques et pharmacologiques (**Figure II.8**).



1,3,4,6-GP-D-GlcNHGP

Figure. II.8. Différentes sites de modification de la glucosamine

II.6.1. Fonctions protégées de la *D*-glucosamine

La synthèse avec des sucres nécessite certaines précautions afin d'obtenir une bonne sélectivité. En effet, puisque les Osamines contiennent quatre fonctions alcools et fonction amine, celles-ci doivent être partiellement protégées afin d'éviter la formation de plusieurs produits pendant la réaction.

Dans les sucres aminés, le premier groupement fonctionnel à protéger est l'amine car les amines sont généralement plus réactives que leurs homologues hydroxyles [40].

II.6.1.1. Protection des groupes amine et hydroxyle

II.6.1.1.1. Protection du groupe amine (-NH₂):

Les amines présentent trois réactivités susceptibles d'être protégées [41]. Elles sont nucléophiles, basiques et, pour les amines primaires et secondaires, acides. Les amines peuvent être protégées sous la forme d'imides, d'amides, de carbamates, d'imines, d'énamines, de dérivés sulfonylés, *N*-sulfénylés, *N*-alkylés ou *N*-silylés [42] plus de 350 groupes protecteurs (statistique 2017) des amines ont été décrits.

II.6.1.1.1.a. Protection de fonction amine par chlorure d'allyloxy-carbonyle

La méthodologie suivie par Boullanger [43], pour protéger fonction amine de la *D*-glucosamine chlorure par d'allyloxy-carbonyle (**Figure. I.9**).

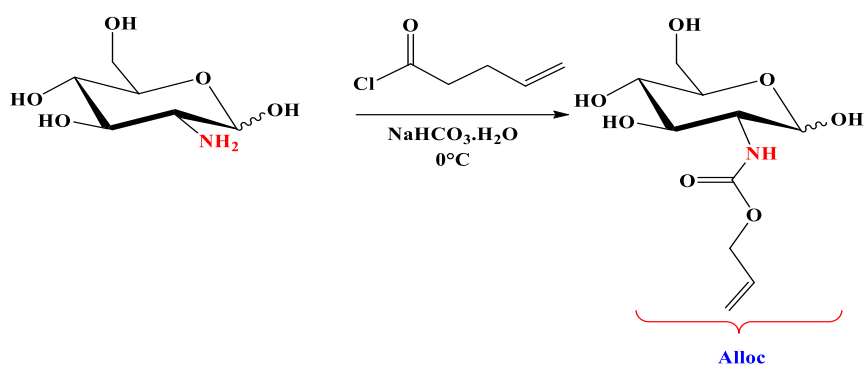


Figure. I.9. Protection de la fonction amine par chlorure d'allyloxy-carbonyle

L'élimination de ce groupe protecteur peut être réalisée par le tetrakis (triphénylphosphine) palladium (0)[44]TPP palladium(0), formule moléculaire est C₇₂H₆₀P₄Pd.

II.6.1.1.1.b. Protection de fonction amine par anhydride phtalique

L'introduction de groupement anhydride phtalique sur l'amine exiger une réaction d'acétylation, qui permet de fermer le cycle imidique (**Figure. II.10**)[45] l'anhydride phtalique a été largement utilisé dans la protection des fonctions amines.

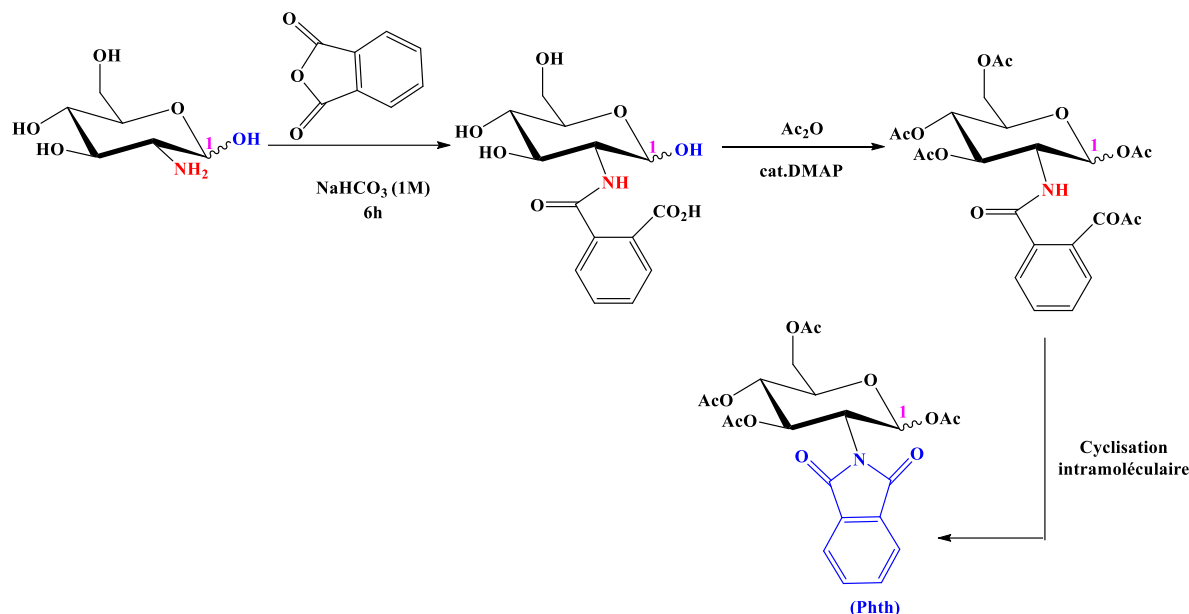


Figure. II.10. Protection de la fonction amine et ensuite l'acétylation

Le clivage de l'anhydride phtalique se fait en milieu l'hydrazine dans l'éthanol (**Figure. II.11**), avec un Rendement de 76%.

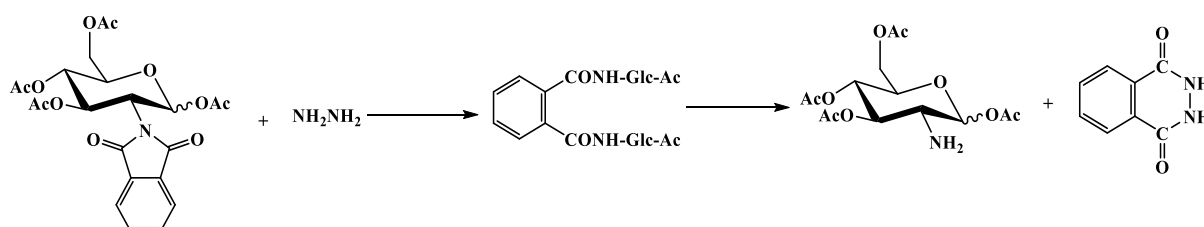


Figure. II.11. Déprotection N-Phth en présence d'hydrazine.

II.6.1.1.1.c. Protection par chlorure d'acryloyle

L'introduction d'un groupement acryloyle en position 2 se fait par l'addition nucléophile de la D-glucosamine sur le chlorure d'acryloyle (**Figure. II.12**)[46,47].

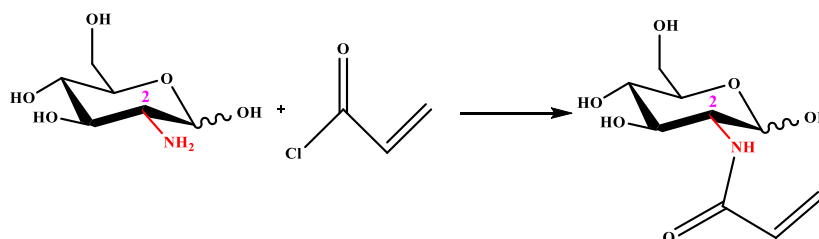


Figure. II.12. Protection de la fonction amine l'acrylation.

II.6.1.1.2. Protection des fonctions alcools :

De très nombreuses stratégies de protection des alcools ont été développées. Cette connaissance est particulièrement importante lors d'un travail dans la série Osamines.

II.6.1.1.2.a. Protection de l'alcool (1C) anomérique:

Le groupement allylique est un groupement protecteur utilisé pour la protection sélective de l'hydroxyle en position anomérique (1C), a été choisi car il est stable dans des conditions à la fois acides ou basiques.

La réaction d'allylation s'effectue par la bromation de la fonction alcool en position anomérique suivie par réaction de W Koenigs et E Knorr [48] en présence de HgCl_2 (Figure. II.13) [49].

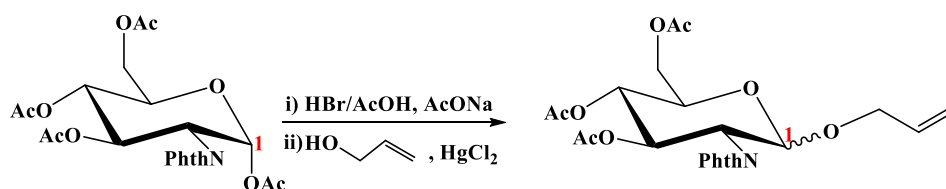


Figure. II.13. Allylation par la réaction de Koenigs-Knorr

Cette procédure s'est avérée inefficace ; c'est une réaction en deux étapes qui utilise des réactifs hautement sensibles (HBr/AcOH) et dangereux (HgCl_2). La formation du bromoglycoside est très instable qu'il a été hydrolyse à l' OH anomère déprotégé .Il peut être éliminé sélectivement par l'utilisation de catalyseur à l'iridium.

II.6.1.1.2.b. Protection de l'alcool primaire (6C) :

II.6.1.1.2.b.1. Protection par le chlorure de trityle

Le trityle, est largement utilisé en synthèse saccharidique. Le grand succès de ce groupement est dû à leur caractère hydrophobe qui permet l'augmentation de la solubilité des

osamines semi-protégés dans les solvants organiques. L'introduction de ces dérivés sur la *D*-Glucosamine s'effectue dans des conditions douces qui permettent la protection sélective des fonctions alcool primaire (**Figure. II.14**) [50].

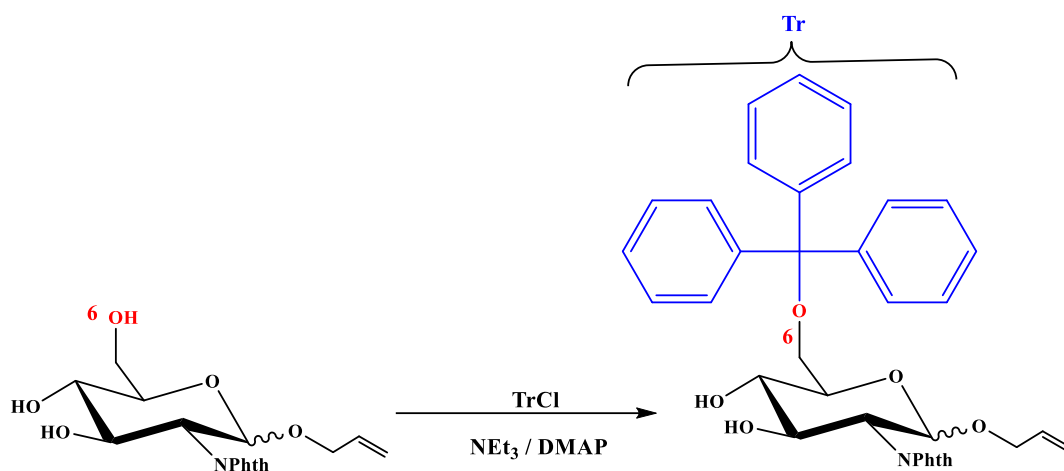


Figure. II.14. Protection l'alcool primaire par le chlorure de trityle

Le trityle est un groupement protecteur très stable qui nécessite des conditions de déprotection difficiles.

II.6.1.1.2.b.2. Protection par le chlorure de tosylo

La tosylation réalisée sur le *D*-GlucNHAlloc, donnant un groupe hydroxyle protégé en 6C. Ensuite a été effectué l'acétylation, la protection de l'hydroxyle primaire était faible rendement 10% (**Figure. II.15**) [51].

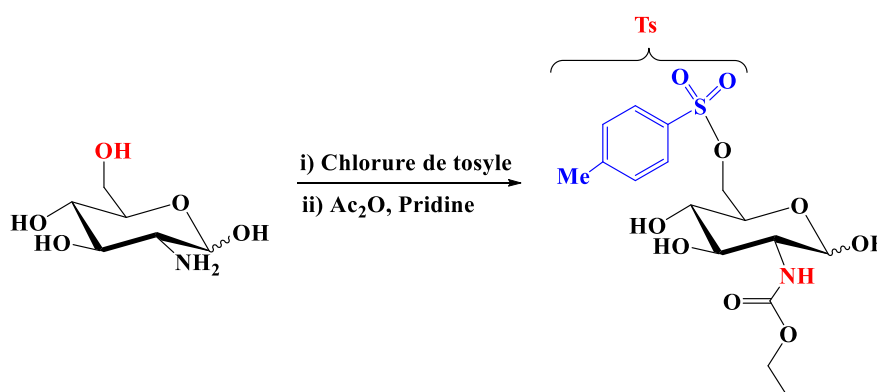


Figure. II.15. Tosylation de l'hydroxyle primaire

La méthode de déprotection sélective de l'hydroxyle primaire 6H [52] est celle qui se fait dans le $\text{Ti}(\text{O-}i\text{-Pr})_4$, Me_3SiCl / THF à 50°C.

II.6.1.2. Protection de la fonction amine et la fonction alcool position 1H.

La synthèse de cet imidate est réalisée selon le mode opératoire décrit dans la littérature [53,54] en trois étapes à partir du chlorhydrate de la *D*-glucosamine (**Figure. II.16.**).

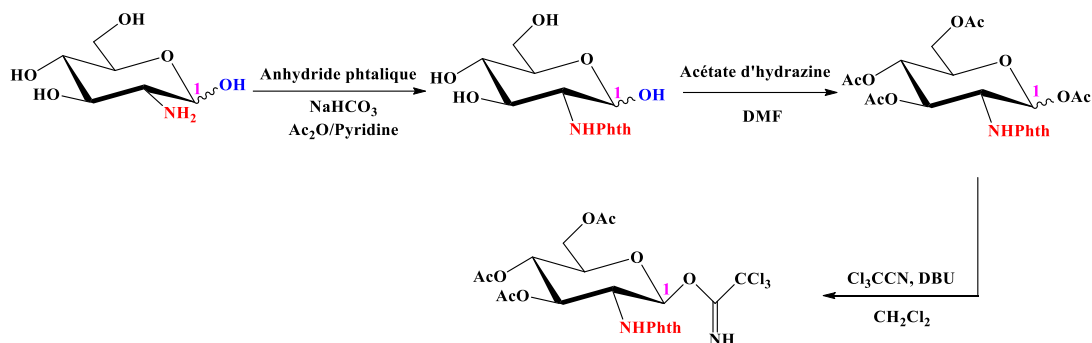


Figure. II.16. Réaction de synthèse du donneur de glycosyle

II.6.1.2. Protection totale par l'anhydride acétique:

En raison de leur importance, plusieurs méthodes de protection avec le groupement acétyle ont été développées dans la chimie des Osamines [55]. La protection totale des alcools des sucres amines par le groupement acétyle est généralement introduite en solubilisant le sucre amine dans la pyridine et en ajoutant de l'anhydride acétique [56]. La protection d'un mélange racémique en présence d'une quantité catalytique de ZnCl_2 ou d'autres catalyseurs acides comme HClO_4 dans l' Ac_2O , permet à protégé anomère α le plus stable [57]. Il est possible d'orienter la réaction vers la formation de l'anomère β en opérant dans l'anhydride acétique à 100% en présence d' AcONa (**Figure. II.17.**).

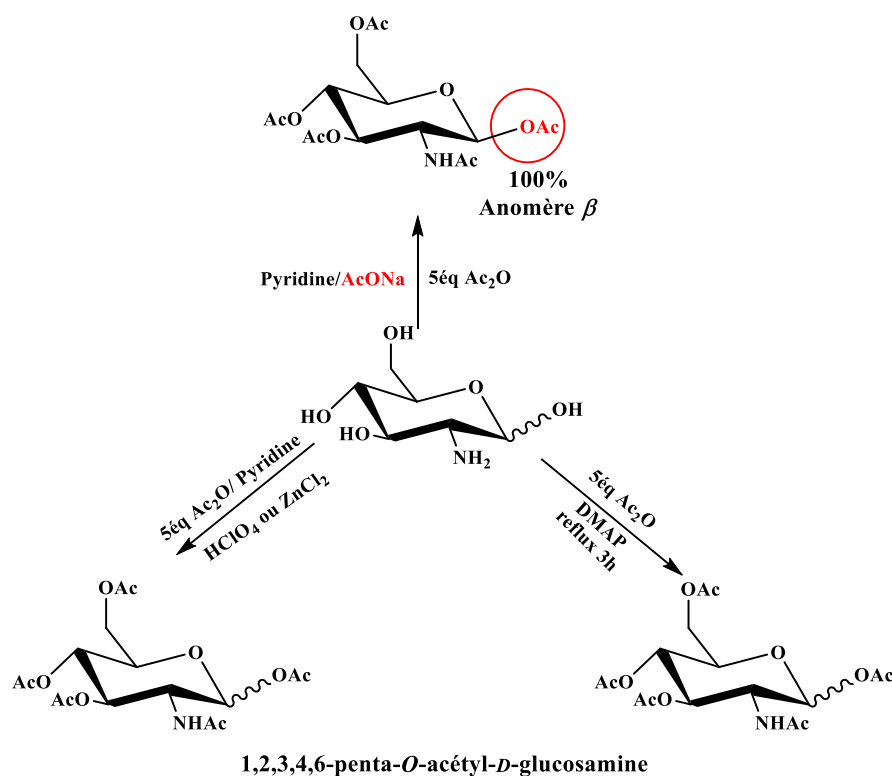


Figure. II.17. Protection totale du *D*-glucosamine par l'anhydride acétique.

La méthode qui est probablement la plus utilisée pour déprotéger ce groupement est la procédure de Zemplen [58]. Il s'agit d'une réaction de trans-estérification effectuée dans le méthanol et catalysée par une trace d'AcONa. Les alcools peuvent aussi être déprotégés en milieu $\text{CH}_3\text{OH}/\text{NH}_3$ [59].

La meilleure méthode de déprotection sélective de la position anomérique est celle qui se fait dans le $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3/\text{DMF}$ [60].

II.6.1.3.1. Synthèse de *D*-Glucosamin-azométhine

La littérature fait mention de nombreux travaux concernant la réaction de condensation des aldéhydes ou des acétones avec β -*D*-glucosamine natif et/ou greffé par les groupement protecteur (GP), nous avons retenu dans ce manuscrit les plus importants et surtout ceux qui nous semblent être réalisables dans notre laboratoire et qui s'inscrivent aussi dans le contexte de la chimie verte.

II.6.1.3.1.1. Synthèse d'azométhine- β -D-Glucosamine protégée à partir du benzaldéhyde substitué

Dans la littérature, une synthèse chimique des β -D-glucosamin-azométhines, il s'agit de la condensation de différent benzaldéhyde substitué, avec de la β -D-glucosamine protégée en présence de pyridine, a permis obtenir d'imines [61]. Il se forme une molécule d'eau lors de cette condensation (**Figure. II.18**).

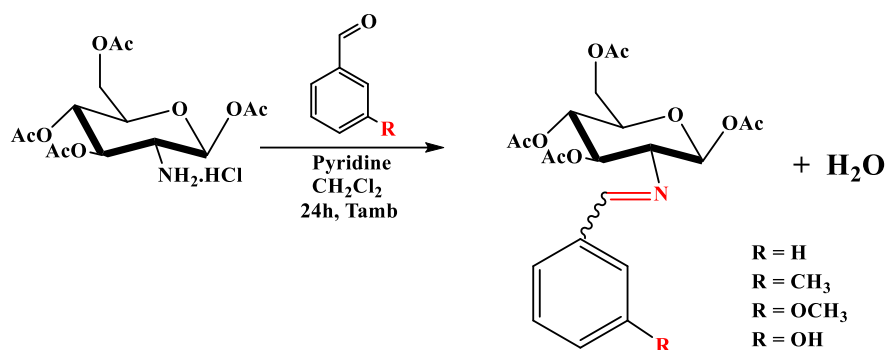


Figure. II.18. Synthèse de différentes β -D-Glucosamin-azométhines à partir de différents aldéhydes

La β -D-glucosamin-azométhines a une stéréochimie (Z ou E). Les atomes de carbone et d'azote sont hybridés sp^2 . La réaction est totalement équilibrée.

II.3.5.3.2. Condensation par L'acide déhydroacétique

La synthèse d'azométhine dérivés de β -D-Glucosamine natif à partir d'acide déhydroacétique dans le milieu aqueux en présence de bicarbonate de sodium [62] (**Figure. II.19**).

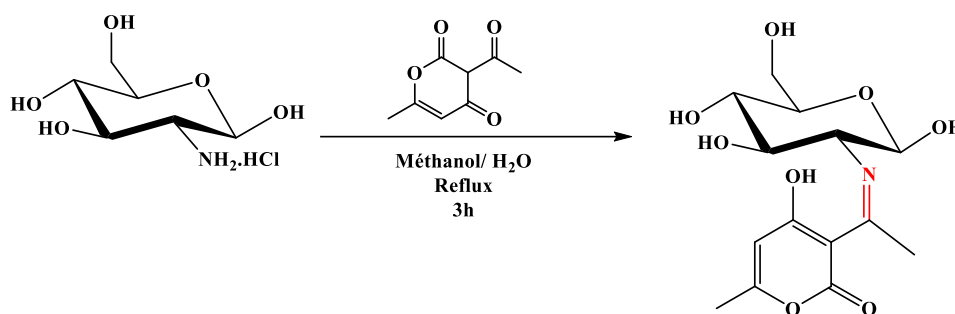


Figure. II.19. Réaction de condensation de β -D-Glucosamine natif par l'acide déhydroacétique

Les imine sont facilement hydrolysées en carbonyle et amine par les acides aqueux (*par exemple* : **HCl 5M /Acétone**)[63], en fait, la plupart être hydrolysée par l'eau, donc en peu dire que l'imine c'est un groupement protecteur spécifique pour la fonction amine.

II.5. Utilisation des Dérivés de *D*-glucosamine en réaction chimique

II.5.1. Utilisation des *D*-glucosamin-azométhines dans les différents domaines

L'importance des azométhines réside dans leurs utilisation comme antibactérienne, antifongique, anti tuberculose, anticancéreuses et anti-tumeurs, ainsi que leurs capacités de capturer des ions métalliques. Les imines jouent un rôle important dans la chimie analytique et industrielle, comme elles ont l'habitude de résister à la corrosion des métaux [64].

II.5.1.a.En catalyse

Les azométhines ou leurs complexes avec des métaux sont employées dans plusieurs types de réactions, on cite par exemple : des réactions d'époxydation, d'hydrolyse et des réactions de décomposition. Des complexes de Co(II) avec les azométhines sont utilisés dans l'époxydation d'oléfines. Certains complexes de cuivre, attaches à des acides aminés, augmentent le taux d'hydrolyse (de 10 à 50 fois) plus que l'ion de cuivre (II) seul [65].

II.5.1.b.En biologie

Ils possèdent plusieurs applications, parmi lesquelles, leur application comme antimicrobienne ; les azométhines d'acide aminé et leurs complexes avec le Cobalt et Fer montrent une activité bactériostatique vers *B. Sublitis*, *E. Coli* et *S. Aureus*.

Cependant, les complexes de Zn(II), Cd(II), Ni(II) et Cu(II) avec les azométhines par exemple les composés du furfural, semi-carbazide et avec la diamine furfuralidene montrent une activité antibactérienne. D'autres applications biologiques peuvent être citées : antifongique, antiviral, insecticide, anti-inflammatoires, anti-tumeur et cytotoxique [66].

II.5.1.c.En polymère

Ils sont utilisés notamment dans la dégradation de résines (gomme) naturelle, comme initiateur d'émulsion polymérique et la copolymérisation des monomères de dienyl et vinyle.

II.6. Conclusion :

Au cours de ce chapitre nous avons présenté une généralité sur les hétérocycles de type Osamines et leurs intérêt biologique qui est la *D*-glucosamine, ses propriétés et son utilisation. Nous avons rapporté une petite explication sur les mécanismes qui expliqueraient

l'efficacité potentielle de la *D*-glucosamine dans le traitement de l'arthrose et sa réactivité pour essayer de mettre en évidence une relation structure - activité.

Références bibliographiques

- [1] .**E.J. Hewett; E.A. Smith**, Plant Mineral Nutrition, *English Universities*, London, **1975**.
- [2] . **M.E. Farago; I.E.D.A.W.Mahmoud**, Metal compounds of pectin, *Inorg. Chim. Acta*, **1983**, 80:pp.273-278.
- [3] . **J.M.Bremmer**, Soil Biochemistry, (Eds *A.D.McLaren et G.H. Peterson*), M. Dekker, New York, **1967**.
- [4] . **S.Phoon; N.Manolios**, Glucosamine. *Aust Fam Physician*. 2002, 31(6):pp.539-541.
- [5] . **G.Ledderhose**, Über salzsaures Glycosamin [On glucosamine hydrochloride], *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, **1876**, 9, (2): pp.1200-1201.
- [6]. **G.Ledderhose**, *Zeitschrift für physiologische Chemie*, II: **1879**, pp.213-227.
- [7] . **G.Ledderhose**, *Zeitschrift für physiologische Chemie*, IV: **1880**, pp.139-159.
- [8]. **W.N.Haworth; W.H.G.Lake; S.Peat**, The configuration of glucosamine (chitosamine), *Journal of the Chemical Society*: **1939**, pp.271–274.
- [9]. **Hughes.R; Carr.A**, A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of glucosamine sulphate as an analgesic in osteoarthritis of the knee, *Rheumatology (Oxford)*, **2002**, 41(3):pp.279-284.
- [10] . **G-H.Beaumont; J-A. Roman; M-C. Trabado**, Effects of glu-cosamine sulfate on 6-month control of knee osteoarthritis symptoms versus placebo and acetaminophen: Results from the Glucosamine Unum in Die Efficacy (GUIDE) trial, *Arthritis Rheum*, **2005**, 52, pp.460.
- [11]. **J.Couture**, L'utilisation de la glucosamine pour traiter l'arthrose. *Le Médecin du Québec*. **2001**, 36(9):pp.75-90.
- [12]. **O. Bruyere; K. Pavelka**, Total joint replacement after glucosamine sulphate treatment in knee osteoarthritis: results of a mean 8-year observation of patients from two previous 3-year, randomised, placebo-controlled trials, *Osteoarthritis and Cartilage*, **2008**, 16(2):pp.254-260.
- [13]. **P-W.Cheng et T-F. Boat**, An improved method for the determination of galactosaminitol, glucosaminitol, glucosamine, and galactosamine on an amino acid analyzer, *Analytical Biochemistry*, **1978**, 85 : pp.276-282.
- [14]. .**G.Blix; E.Lingberg; L.Odin et I.Werner**, Studies on sialic acids, *Acta Soc Med Ups*, **1956**, 61 :pp.1-26.
- [15]. L-A.Shinobu; S.G. Jones; M-M.Jones, Sodium N-Methyl-D-glucamine Dithiocarbamate and Cadmium Intoxication, *Acta Pharmacologica Toxicologica*, 1984, 54(3):pp.189-194.

- [16]. **A.Das; T.A Hammad**, Efficacy of a combination of FCHG49 glucosamine hydrochloride, TRH122 low molecular weight sodium chondroitin sulfate and manganese ascorbate in the management of knee osteoarthritis, *Osteoarthritis Cartilage*, **2000**, 8(5):pp343-350.
- [17]. **P. Nguyen; S-E. Mohamed; D. Gardiner; T. Salinas**, Intervenciones farmacológicas para el dolor en pacientes con trastornos de la articulación temporomandibular, *Cranio:The Journal of Craniomandibular Practice*, **2001**, 19(2):pp.130-139.
- [18]. **M.Meulyzer; P. Vachon; F. Beaudry; T. Vinardell; H. Richard; G .Beauchamp; S .Laverty**, Comparison of pharmacokinetics of glucosamine and synovial fluid levels following administration of glucosamine sulphate or glucosamine hydrochloride, *Osteoarthritis Cartilage*, **2008**,16(9):pp. 973-979.
- [19]. **J-M. Pujalte; E-F. lavore; F-R. Ylescupidéz**, Double-blind clinical evaluation of oral glucosamine sulphate in the basic treatment of osteoarthrosis, *Curr Med Res Opin*,**1980**, 7(2): p.110-114.
- [20]. **K. Jamialahmadi; O.Arasteh; M.Riahi; S.Mehri; B-R.Zanjani; G.Karimi**, Protective effects of glucosamine hydrochloride against free radical-induced erythrocytes damage,**2014**, 38(1):pp.212-229.
- [21]. **J. Couture**, L'utilisation de la glucosamine pour traiter l'arthrose, *Québec Pharmacie*, **2001**, 36(9) : pp.75-79.
- [22]. **G.Crini ; É.Guibal ; M.Morcellet ; G.Torri, et P-M Badot**, Chitine et Chitosane-Du biopolymère à l'application, *presses universitaires de franche-comté*, **2009**, Chapitre I : pp. 19-54.
- [23]. **M.Soltani; K.Karimi; A.Zamani**, Fungal Glucosamine: Production, Purification, and Characterization, *International Journal of Research Studies in Biosciences*, **2017**, 5(1):pp. 56-64.
- [24]. **P-S.Mcnamara; S-A.Johnston; R-J .Todhunter**, Slow-acting, disease-modifying osteoarthritis agent, *Small Animal Practice*, **1997**, 27 (4) : pp.863-881.
- [25]. **B-A.Berit ; E- B.Heggset ; A- L.Norberg; M.Sørlié ; K-M.Vårum et V-G-H. Eijsink**, Enzymatic Degradation of Chitosans, *Mar Drugs*, **2010**, 8(5): pp.1482-1517.
- [26]. Chitin Chitosan Oligosaccharides and Their Derivatives, **Se-Kwon Kim (Editor)**, *CRC Press*, **2010**.
- [27].**W-M.Haynes**; *CRC Handbook of Chemistry and Physics* (96th ed.), Boca Raton, FL: CRC Press. **2015**.
- [28]. **I. Setnikar; C. Giacchetti et G. Zanolo**, Pharmacokinetics of glucosamine in the dog and in man, *Arzneimittelforschung*, **1986**, 36(I):pp.729-735.

- [29]. **K. Brunt**, Influence of mutarotation catalysts on the liquid chromatography of malto-oligosaccharides on a cation-exchange resin, *J. Chromatogr. A*, 267, **1983**, pp.347-354.
- [30]. **D.Schumacher; L. W.Kroh**, A rapid method for separation of anomeric saccharides using a cyclodextrin bonded phase and for investigation of mutarotation, *Food Chem*, **1995**, 54 (4), pp.353-356.
- [31]. **J. O.Baker; M. E. Himmel**, Separation of sugar anomers by aqueous chromatography on calcium- and lead-form ion-exchange columns : Application to anomeric analysis of enzyme reaction products, *J.Chromatogr. A.*, **1986**, 357, pp.161-181.
- [32]. **A.M.Skelley; R. A.Mathies**, Rapid on-column analysis of glucosamine and its mutarotation by microchip capillary electrophoresis, *J. Chromatogr. A.*, **2006**, 1132 (1–2), pp.304-309.
- [33]. **P-K. Dutta;S. Tripathi;G-K Mehrotra etJ. Dutta**, Perspectives for Chitosan Based Antimicrobial Films in Food Applications, *Food Chemistry*,**2009**, 114:pp. 1173-1182.
- [34]. **P-S. Fernandez;C.Soler ;J-M .Lagaron et M-J Ocio**,*International Journal of Food Microbiology*;**2010**, 137(2-3):pp.287-294
- [35]. **J.Zhang; W.Xia; P.Liu; Q.Cheng; T.Tahirou; W. Gu et L. Bo**, Chitosan Modification and Pharmaceutical/Biomedical Applications, *Marinedrugs*, **2010**, 8: pp.1962-1987
- [36]. **Prescott; L. M.; J. P. Harley and D. A. Klein**, *Microbiology, 6th ed. McGraw-Hill Publishing*, **2005**.
- [37]. **Tortora. G. J; B. R. Funke and C. L. Case**, *Microbiology: an introduction*, 9th ed. *Pearson Education, Inc.*, San Francisco, Calif, **2007**.
- [38]. **Y.Hrynets; A. Bhattacharjee; M. Ndagijimana; D-J. Hincapie Martinez et M.Betti**,*J. Agric. Food Chem.*, **2016**, 64 (16) :pp 3266–3275.
- [39]. **Y. Funakoshi; T.Suzuki**, Glycobiology in the cytosol: The bitter side of a sweet world, *Biochim. Biophys. Acta*, **2009**, 1790 (2): pp.81–94.
- [40]. **.J. Stepper; S. Shastri; T-S. Loo; J-C Preston; P. Novak; P. Man; C-H Moore; V. Havlíček; M-L. Patchett;G. E. Norris**, *FEBS Letters*, **2011**, 585 (4): pp. 645–650.
- [41]. **M- C. Hochberg**, *Review: clinical. Osteoarthritis and Cartilage*, **2012**, 5: pp.460–483.
- [42]. [21]. **J. Couture**, L'utilisation de la glucosamine pour traiter l'arthrose, *Québec Pharmacie*, **2001**, 36(9) : pp.75-79.
- [43]. **M. Piperno ; P. Reboul ; M. Hellio Le Graverant ; M. Peschard ; M. Anfeld ; M. Richard**,*Osteoarthritis Cartilage*, **2000**, 8(3):pp.207-212.
- [44]. **P. Chevalier**, Glucosamine et/ou chondroïtine pour la gonarthrose, *Minerva*, **2006**, 5(10) ;pp.156-158.

- [45]. **S-E. Gulmez; R.Lassalle; J.Jové; A.Grolleau**, Risque d'hospitalisation pour hépatite chez les utilisateurs d'AINS et de paracétamol sans surdosage (EPIHAM), *Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique*. **2016**, 64 (5) :p. S277.
- [46]. With **M. P. Doyle**, Basic Organic Stereochemistry. *John Wiley & Sons*, New York. **2001**.
- [47]. **K-L.Chang; M-M-L Zulueta; X-A. Lu et Y-Q.Zhong**, *J. Org. Chem.*, **2010**, 75 (21), pp.7424–7427.
- [48]. **P.J. Kocienski**, Protecting Groups, *Georg Thieme Verlag; Stuttgart. Chemistry*, **2006**, 15(1):pp.74 -75.
- [49]. **G-M. Wuts Peter et W. Greene Theodora**, *Greene's Protective groups: In organic synthesis*. **2007**, 4e éd: p. 1082.
- [50]. **P.Boullanger; J.Banoub; G.Descotes**, N-Allyloxycarbonyl derivatives of D-glucosamine as promoters of 1,2-trans-glucosylation in Koenigs–Knorr reactions and in Lewis acid catalyzed condensations, *Can. J. Chem.* **1987**, 65(6):pp 1343-1348.
- [51]. **G.Francois**, Allylic protecting groups and their use in a complex environment part II: Allylic protecting groups and their removal through catalytic palladium π -allyl methodology, *Tetrahedron* **1998**, 54 (13):pp. 2967-3042.
- [52]. **H. Toiserkani ; H. Sheibani ; K. Saidi**, Preparation and characterization of novel organosoluble and thermally stable poly(benzimidazole-amide)s bearing phthalimide pendent groups, *European Polymer Journal*, **2010**, 46 :pp.185–194.
- [53]. **R-R Schmidt et W. Kinzy**, Anomeric-oxygen activation for glycoside synthesis: the trichloroacetimidate method, *Adv. in Carbohydr. Chem. Biochem.*, **1994**, 50 :pp. 221-213.
- [54]. **Y. Zhao and S. Perrier**, Synthesis of well-defined conjugated copolymers by RAFT Polymerization using cysteine and glutathione-based chain transfer agents, *Chem. Commun.*, **2007**, 41:pp. 4294-4296.
- [55]. **J. Bernard; X. Hao; T. P. Davis; C. Barner-Kowollik and M. H. Stenzel**, Synthesis of various glycopolymer architectures via RAFT polymerization: from block copolymers to stars, *Biomacromolecules*. **2006**, 7(1):pp. 232-238.
- [56]. **W. Koenigs et E.Knorr**, Ueber einige Derivate des Traubenzuckers und der Galactose (*Sur certains dérivés du glucose et du galactose*), *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*. **1901**, 34 (1): pp.957-981.

- [57]. **T.Matsuda ; T.Sugawara**, Synthesis of Multifunctional, Nonionic Vinyl Polymers and Their ¹³C Spin-Lattice Relaxation Times in Deuterium Oxide Solutions, *Macromolecules*, **1996**, 29 (16), pp 5375-5383.
- [58]. **T-V. Tyrtysch, N-E. Byramova, N-V. Bovin**, 1,6-Anhydro-N-acetyl-β-D-glucosamine in the oligosaccharide syntheses: I. Synthesis of 3-acetate and 3-benzoate of 1,6-anhydro-N-acetyl-β-D-glucosamine via the 4-O-trityl derivative, *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. **2000**, 26(6), : pp 414-418.
- [59]. **J. Yan ; J. Li ; DCheng**, Novel and Efficient Synthesis of 1-Iodoalkynes, *Synlett*. **2007**, 15, pp.2442-2444.
- [60]. **N. Shohji; T. Kawaji; S. Okamoto**, Ti(O-i-Pr)₄/Me₃SiCl/Mg-Mediated Reductive Cleavage of Sulfonamides and Sulfonates to Amines and Alcohols, *Org.Lett.*, **2011**, 13 :pp. 2626-2629.
- [61]. **J- S. Debenham, R. Rodebaugh, et B. Fraser-Reid**, *J. Org. Chem.* **1996**, 61, pp. 6478-647.
- [62]. **N.Afza, A.Malik, F.Latif, et W. Voelter**, Synthesis of Sugar Nitrates by Nucleophilic Substitution, *Liebigs. Ann. Chem*, **1985**, 10: pp.1929-1934.
- [63]. **G. Zemplen; E. Pascu**, The saponification acetyl sugar and relative Substances, *Chem. Ber*, **1929**, 62: pp.1613-1614.
- [64]. **H-A Shenawy; C. Schuerch**, Alternative syntheses and related N.M.R. studies of precursors for internal β-d-galactopyranosyl residues in oligosaccharides, allowing chain extension at O-4, *Carbohydr. Res.* ,**1984**, 13(1):pp.239-246.
- [65]. **T.Wang; S-S.Nigudkar; J-P.Yasomanee; N-P.Rath; K-J. Stine;A.V. Demchenko**, Glycosyl nitrates in synthesis: streamlined access to glucopyranose building blocks differentiated at C-2, *Org Biomol Chem*, **2018**, 16(19): pp.3596-3604.
- [66]. **D. Rituparna et M. Balaram**, Chemical O-Glycosylations: An Over view Chemistry Open, **2016** , 5(5): pp.401–433.

Partie Pratique

Chapitre III

Procédures expérimentales De l'extraction et la caractérisation

MATÉRIEL ET MÉTHODE

III.1. Objectif d'étude

L'objectif de cette étude est de faire l'extraction de la glucosamine (de la chitine et ses dérivés chitosane et glucosamine) à partir des déchets alimentaires et faire l'étude à des co-produits mers (crevettes), et des co-produits non mer (maïs et la coque de cacahuètes) et de trouver le bon rendement optimal en suivant les étapes de travail : déminéralisation, déprotéinisation, désacétylation et décoloration.

III.2. Matériels d'expérimentation

III .2.1. Solution et produits utilisé

- HCl
- NaOH
- Acide acétique
- Ethanol
- Méthanol
- Eau oxygénée
- Eau distillé

III.2.2. Appareillages

- Balance
- Etuves
- Papier-pH
- Les verreries de laboratoire
- Plaques chauffante
- Agitateur

III.3. METHODE D'ETUDE

III.3.1 Extraction de la chitine et ses dérivés:

Prétraitement des échantillons

A. Préparation de la poudre de crevettes

Les résidus de carapaces de crevettes, nous avons les nettoyer à l'eau du robinet. Puis, nous avons laissé sécher à température ambiante pendant 24 heures à 48 heures à l'air libre, ensuite, nous avons broyé les carapaces de crevettes séchées jusqu'à ce qu'elles deviennent poudre rose.

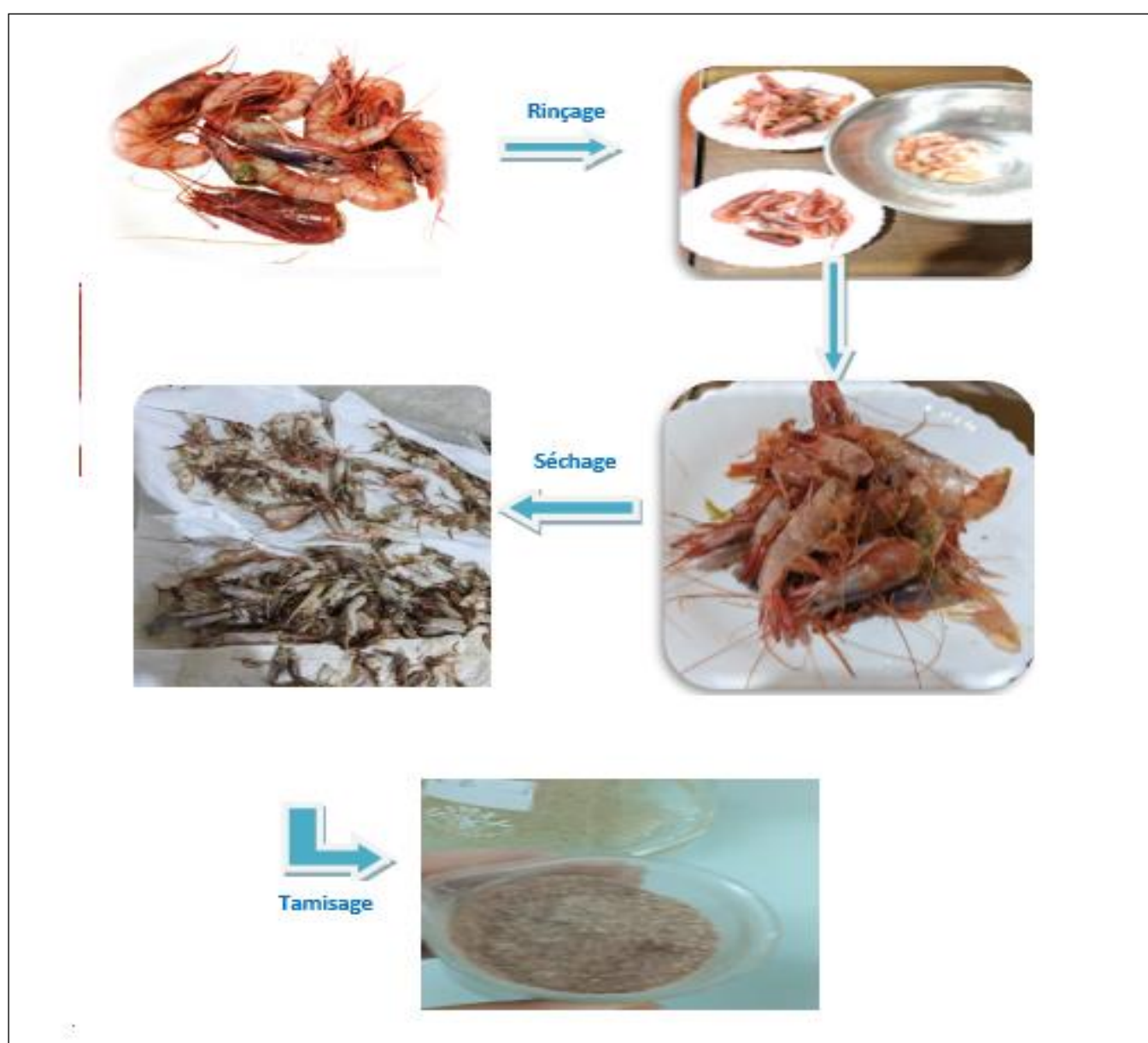


Figure I.1 : préparation la poudre de crevettes

B. Préparation de la poudre de la coque de cacahuètes

Après l'obtention des cacahuètes, nous avons trié les plus propres possible. Ensuite, nous avons lavé à l'eau de robinet et à l'aide de la brosse pour éliminer la poussière et les résidus organiques, nous avons séché à température ambiante, Après le séchage ont cassé la coque pour récupérer juste la coque. Ensuite, nous avons broyé ces coques de cacahuètes jusqu'à ce qu'elles deviennent poudre.

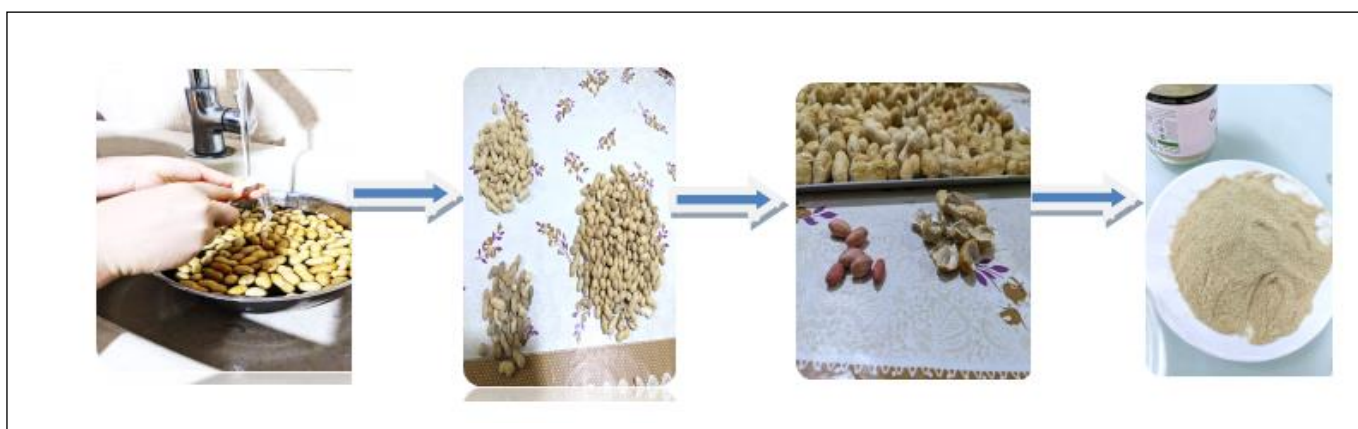


Figure I.2 Préparation de la poudre de cacahuète

C. Préparation de la poudre de maïs

Nous avons nettoyé à l'aide d'un chiffon humide les grains de maïs puis nous avons laissé sécher à température ambiante jusqu'au séchage complet, Ensuite, nous avons broyé ces grains de maïs jusqu'à ce qu'elles deviennent poudre jaune.



Figure I.3 maïs en forme de poudre

III.4. Extraction de la chitine

III.4.1 Procédure chimique

➤ **Étape 1: Déminéralisation en milieu acide**

La déminéralisation consiste à traiter les co-produits par une solution d'acide généralement du HCl pour solubiliser et éliminer les minéraux (carbonate de calcium et le chlorure de calcium), comme décrit dans la réaction suivante :



Les concentrations en HCl rencontrées sont comprises entre 0,5 et 11 N et le ratio entre 1:10 et 1:40 (g/v). La déminéralisation dure entre 15 min et 48 h, de la température ambiante à 50 °C [1, 2].

La plupart des autres minéraux présents réagissent de façon similaire et donnent des sels solubles en présence d'acide. Les sels formés peuvent être séparés de la chitine par simple filtration suivie de lavage.


Une grande quantité de mousse est produite durant la déminéralisation résultant du dégagement du gaz carbonique. La vitesse d'expansion de la mousse produite dépend de la vitesse de la réaction de déminéralisation et peut conduire au débordement du milieu réactionnel. L'ajout d'un agent anti-moussant permet une libération plus constante du gaz limitant le risque de débordement de la solution [3].

Manipulation

40 g de la poudre sèchent du co-produit a été dispersée dans 250 mL jusqu'à 350 ml d'une solution de 1,5 M de HCl, le tout est mélangé à température ambiante pendant 2 h et à température de 50 à 80 °C durant 3 h. Le produit obtenu est ensuite récupéré, filtré et lavé plusieurs fois jusqu'à l'obtention d'un pH neutre (papier PH), le produit récupéré est ensuite séché à l'étuve à 80 °C durant 24 h. La figure 4, montre quelques-unes des étapes de déminéralisation de la poudre de coproduits (crevette, cacahuètes et de maïs).

Étape 2 : Déprotéinisation (NaOH)

À l'état naturel, on retrouve la chitine sous la forme Chitinoprotéine [4]. C'est-à-dire que les protéines liées à la chitine. Les protéines sont éliminées par hydrolyse basique, les réactifs employés dans cette étape sont des bases fortes comme l'hydroxyde de potassium (KOH), mais pour des raisons économiques l'hydroxyde de sodium (NaOH) privilégie. Mais, aucun procédé n'est parvenu à éliminer les protéines dans une période inférieure à six heures. Dans les meilleurs cas, il reste toujours quelques résidus protéiques attachés à la chitine. Il semble que les liens entre les protéines et la chitine diffèrent d'une espèce à l'autre et que le traitement doit être varié.

Al Sagheer [2]  montre dans ces études que la déprotéinisation de la chitine est effectuée avec une solution de NaOH 1M avec un rapport solide – liquide (1 :20 /g : ml) à 70° C, pendant une nuit. Par contre, dans une autre étude réalisée par El Knidri [5] montré que la déprotéinisation est effectuée avec un traitement alcalin de solution d'hydroxyde de sodium à 10 % à température de 80 °C durant 2 h avec un rapport solide – liquide (1 : 10 /g : ml) pour éliminer les protéines.

Manipulation

- ❖ Le produit déminéralisé est mis sous agitation ou dans une solution alcaline de NaOH 2,5 N pendant 2 h à température ambiante et à température de 60 à 70 °C pendant 4 h. Le produit traité est filtré de la solution basique puis lavé à l'eau distillée. Enfin, c'est mis à l'étuve pour sécher à 60 à 70 °C durant 48 h jusqu'à l'obtention d'un poids stable. Étape de centrifugation 1000 °C durant 10 min L'obtention de la chitine brute.

➤ Etape 3 : Désacétylation

Le principe de cette étape est d'enlever des groupes acétylés de la chitine pour obtenir le chitosane, cette opération est faite dans un milieu basique, généralement des solutions concentrées de NaOH ou de KOH à une température élevée [6]. Les conditions spécifiques de la réaction dépendent du produit de départ, du prétraitement réalisé auparavant et du degré souhaité de désacétylation.

Manipulation

20 g de chitine a été traité par solution de NaOH (70%) avec une température très élevée (121-122°C) de plaque chauffante pendant 3 à 4 h, puis lavé par l'eau distillée 3 fois jusqu'au pH= neutre. Le produit récupéré sera ensuite séché à l'étuve pendant 24 heures à 50 °C.

➤ **Etape 4: Décoloration (blanchiment)**

Le pigment dans les carapaces de crustacés forme un complexe avec la chitine [4]. Ces traces de pigments peuvent être éliminées par une oxydation, généralement un mélange de H₂O₂ et ACOH le mélange sera laissé sous agitation pendant une heure jusqu'à une nuit (dépend de la nature de la chitine ou le chitosane). Cette opération est optionnelle pour obtenir une poudre blanche acceptable commercialement. Il est très difficile d'obtenir un produit pur à cause des fortes interactions entre la chitine, les pigments et les protéines [7]. En effet, les conditions de décoloration induisent une altération de la structure de la chitine, qui se traduit par une réduction du poids moléculaire.

Manipulation

La première opération de décoloration consiste à additionner la matière sèche obtenue à un mélange acétone/éthanol (v/v). Le mélange sera laissé sous agitation magnétique durant toute une nuit, puis une filtration sera effectuée, poursuivie plusieurs fois lavages à l'eau distillée et un dernier rinçage avec l'éthanol.

Après étuvage pendant toute une nuit à 50°C, la matière sèche obtenue, sera de nouveau traitée avec le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) à une concentration de 0,135 %, et un rapport solide/solvant (*p/10v*) (1/10), sous agitation magnétique maintenue pendant 30 minutes. Le mélange sera par la suite filtré, suivi de plusieurs lavages du culot à l'eau distillée et séchage à l'étuve pendant 24 heures à 50°C.

Obtention du Chitosane

➤ **Étape 5 : Désacétylation**

Le chitosane est obtenu par désacétylation de la chitine (c'était déjà mentionné précédemment). C'est une opération qui est généralement effectuée dans une solution de NaOH (50%), sous une température de 100°C pendant 2 heures, selon un ratio (*p/v*) de 1:15. Le chitosane obtenu sera ensuite filtré puis lavé à l'eau distillée afin d'éliminer la soude résiduelle, et ce, jusqu'à ce que le pH de l'eau de lavage atteigne la neutralité. Après étuvage

pendant 12 heures à 50°C, la poudre de chitosane acquise est prête à être utilisée suivant l'objectif assigné.

Obtention du glucosamine

➤ **Étape 5 : Hydrolyse acide**

Pour éviter longtemps temps de chauffage, le reflux dans une solution d'acide très dilué. La quantité de la chitosane subite un traitement par une solution d'HCl à 2.10⁻³N à température de 122 °C pendant 3 h. Ce mélange est filtré par la suite, à l'aide d'un papier filtre, lavé jusqu'à un pH =7 puis séché comme précédant. Dans cette étape, on obtient la glucosamine avec un faible rendement.

III.5. Activité antioxydante

Le DPPH est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante et en raison de sa stabilité en forme radicale libre et la simplicité de l'analyse. Il absorbe dans le visible à la longueur d'onde de 517 nm. Le protocole expérimental suivi pour étudier l'activité du piégeage du radical libre DPPH est celui qu'a décrit dans le littérature en apportant quelques modifications [8], où 0,3 mL de la solution de chitosane (crevettes et les coquilles d'arachide) testée à différentes concentrations 0 à 12 mg/mL sont mélangées avec 75µl d'une solution méthanolique de DPPH (1,3mg/mL) après une période d'incubation de 30 minutes à la température ambiante, l'absorbance est mesurée à la longueur d'onde de 517 nm. Tous les essais ont été effectués trois fois afin de vérifier la reproductibilité. La capacité de piégeage des radicaux libres DPPH (%) a été déterminée selon la formule suivante [9].

$$I (\%) = \left| \frac{Abs_{517nm} \text{ mdecontrôle} - Abs_{d'échantillon}}{Abs_{517nm} \text{ mdecontrôle}} \right| \times 100 \quad \dots\dots\dots (1)$$

Avec :

I % : Le pourcentage d'inhibition (Capacité de piégeage des radicaux libres DPPH) ;

Abs_{517nm} : Absorbance du radical (DPPH') (t = 0 min) ;

Abs *d'échantillon*: Absorbance de l'échantillon contenant une dose du dérivé testé (t= 30 min);

La concentration des échantillons synthétisés provoquant 50% d'inhibition (CI₅₀) du radical (DPPH'), est déterminée graphiquement par la régression linéaire à partir du graphe des pourcentages d'inhibition (I %) en fonction de concentrations (C) des échantillons.

Références Bibliographies

- [1]. **Tolaimate.A; Desbrieres.J; Rhazi.M; Alagui.A**, Contribution to the preparation of chitins and chitosans with controlled physico-chemical properties, *Polymer*. PISSN 0032-3861, **2003**, (44): 7939–7952.
- [2]. **Al Sagheer.F; A. Al-Sughayer; M.A.Muslim; S.Elsabee; M.Z**, Extraction and characterization of chitin and chitosan from marine sources in Arabian Gulf., *Carbohydr Poly*, **2009**, 77(2): 410-419.
- [3]. **No.H.K; Hur. E.Y**, Control of Foam Formation by Antifoam during Demineralization of Crustacean Shell in Preparation of Chitin, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **1998**, 46, 9. 3844-3846.
- [4]. **Crini.G ; Badot.P.M; Guibal.E**, Chitine et Chitosane Du polymère à l'application, *Presses universitaires de Franche-Comté*, **2009**.
- [5]. **El Knidri.H; Belaabed.R; Addaou.A; Laajeb.A et Lahsini.A**, Eco-friendly extraction and characterization of chitin and chitosan from the shrimp shell waste via microwave irradiation, *Process Safety and Environmental Protection*, **2016**, 104 : pp395-405.
- désacétylation
- [6]. **Annouar.S ; Soufiane.A ; Mountadar.M**, Etude de la Dénitratation par des Adsorbats Naturels (Chitine et Chitosane), *Revue Francophone d'Ecologie Industrielle - n°37- 1er trimestre*, Université d'El Jedida, Maroc, **2005**, pp34-51.
- [7]. **No. H.K ; Meyers. S.P & Lee. S**, Isolation and characterization of chitin from crawfish shell waste, *Journal of agricultural and food chemistry*, **1989**, (37) : 575-579.
- [8]. **Wettasinghe, M., Shahidi, F.** Scavenging of reactive-oxygen species and DPPH free radicals by extracts of borage and evening primrose meals. *Food Chemistry*, **2000**. 70(1), pp17–26.
- [9]. **Garcia, Eugenio José; Oldoni, Tatiane Luiza Cadorin; Alencar, Severino Matias de; Reis, Alessandra; Loguercio, Alessandro D.; Grande, Rosa Helena Miranda.** Antioxidant activity by DPPH assay of potential solutions to be applied on bleached teeth. *Brazilian Dental Journal*, **2012**, 23(1), pp.22

IV. 1. Résultats de l'extraction

Dans ce chapitre, notre objectif est (i) l'identification : le chitosane et la glucosamine, produit de la chitine issue de l'extraction d'une source locale : coquille de crevettes, arachide (Cacahuète) et maïs) (ii) la production la chitine, le chitosane et glucosamine par une méthode verte, simple, rapide et moins coûteuse. (iii) l'évaluation de la composition et des propriétés physicochimiques des produits désirés à l'aide des mesures adaptées telles que la conductimétrie, pH métrique et UV-visible.

IV.1.1 Rendement de l'extraction

IV.1.1.a. Extraction de la chitine

La chitine, le chitosane et la glucosamine ont été extraits à partir de 40 g de co-produits testés (la poudre de crevette, la poudre de cacahuète et la poudre de maïs). Ces produits ont été obtenus au moyen d'un traitement basique et acide. Dans l'étape basique de déprotéinisation, le traitement chimique est utilisé pour détruire les liaisons chimiques covalentes entre les complexes chitine-protéine (les protéines sont liées par des liaisons covalentes à la chitine formant ainsi des complexes stables).

La solution alcaline d'hydroxyde de sodium permet aussi d'éliminer les faibles quantités de lipides et pigments .Le traitement acide a été effectué pour la séparation du chitosane de la chitine et la glucosamine de la chitosane. Cette étape a également contribué à l'élimination des impuretés minérales résiduelles de la chitine (produit de départ).L'une des difficultés associées à la préparation d'une chitine pure et qui maintient la structure macromoléculaire proche de la forme native est de minimiser la désacétylation partielle des chaînes et la dégradation provoquée par la déprotéinisation et les étapes d'hydrolyse acide pendant le processus d'extraction à partir de la matière première .On obtient à la fin du traitement une poudre de la chitine pure.

$$\text{Rdt (\%)} = \frac{\text{Masse de l'échantillon avant le traitement}}{\text{Masse de l'échantillon après le traitement}}$$

Tableau.1.: Rendement des différentes étapes d'extraction de la chitine

Rdt (%)	Produits et Traitement	Déminéralisation	Déprotéinisation	Désacétylation	Décoloration	Rdt globale (%)
	Crevette	78.20	66.00	69,60	77,33*	48.28
	Cacahuète	74	86,7	88,83	96,40	58.51
	Maïs	20,83	14,16	10.23	28.12	29.70

* :On a décoloré juste la moitié de la quantité de crevette

Le rendement global du processus d'extraction de la chitine :

$$(Rdt) = 100 - \frac{40g}{Rdt (Décoloration)} \times 100$$

D'après les rendements calculés, on remarque une perte de masse importante après chaque traitement ce qui peut être expliqué par la solubilisation des sels minéraux présents dans la composition de crevette, de cacahuète et de maïs et la dissociation du complexe chitine-protéine (Chitinoprotéine), ainsi que l'élimination des pigments tel que les dérivés de β -carotène. Ces résultats nous confirment l'efficacité des traitements d'isolation de la chitine. Le temps de réaction a aussi un effet important sur l'efficacité d'extraction. Plus on augmente l'intervalle de temps, plus on assure la pureté de la chitine. Mais comme il a déjà été mentionné dans la bibliographie, les conditions drastiques * peuvent conduire à la dépolymérisation ou la dégradation du polymère.

IV.1.1.b. Extraction du chitosane

Le chitosane est habituellement séparé de la chitine par un traitement acide. Nous avons essayé d'isoler le chitosane par précipitation du surnageant après addition d'une solution concentrée d'hydroxyde de sodium (2.5N).

5 g de la chitine obtenu a été désacétylée par une solution de l'hydroxyde de sodium (2.5N) pendant différentes périodes de temps à température variée de 60°C à 120°C pendant 24h.

* Dans une réaction chimique, conditions, notamment de température ou de pression, exceptionnellement énergiques.

Efficacité des traitements

Tableau.IV.2.Rendement de la chitine désacétylée à température 60°C

	T : 60°C			
Traitement (h)	1h	5h	17h	24h
Masse du chitosane (g)	3.89	3.10	3.15	3.55
Rdt(%)*	64.80	64	83.80	68.6

*Précipitation

Tableau.IV.3.Rendement de la chitine désacétylée à température 80°C

	T : 80°C			
Traitement (h)	1h	5h	17h	24h
Masse du chitosane (g)	3.45	3.25	2.10	2.84
Rdt(%)*	67.10	70.23	88.88	55.10

*Précipitation

Tableau.IV.4.Rendement de la chitine désacétylée à température 120°C

0Tableau.4.Rendement de la chitine désacétylée à température 120°C

	T : 120°C			
Traitement (h)	1h	5h	17h	24h
Masse du chitosane (g)	2.07	1.12	0.20	0.43
Rdt(%)*	69.60	66.75	25.00	12.53

*Précipitation

D'après les résultats présentés dans les tableaux 2 à 4, on constate que cette transformation chitine–chitosane enregistre un rendement en chitosane relativement faible, surtout quand le temps de réaction et la température sont élevés. À titre d'exemple, quand on double l'augmentation de la température de 60 à 80 °C et que l'on maintient la même durée (17h) de réaction, le rendement en chitosane chute de 83.90 à 88.88 %.

D'autres parts, une augmentation du temps de réaction de 1h à 24h pour une même température de 120 °C, par exemple, le rendement en chitosane a baissé de 69.60 à 12.53 %. Ceci est probablement dû à une transformation indésirable et non contrôlée d'une partie de la chitine, et l'on peut penser aussi que ce baissment de rendement peut être dû à la dégradation de chitine avons se transforme à le chitosane.

Nous ne nous sommes pas attelés à identifier ces substances qui nécessitent des techniques de séparations très poussées comme la chromatographie par exemple.

À partir des résultats obtenus et comme il a déjà été rapporté ultérieurement par beaucoup de scientifiques, on peut confirmer que les conditions de réaction, soit le temps, la température ou la concentration de la solution alcaline utilisée, influent sur la désacétylation de la chitine et par conséquent sur le degré de désacétylation du chitosane obtenu. Et, comme nous l'avons déjà mentionné, des conditions drastiques de traitement peuvent conduire à la dégradation d'au moins une partie du polymère.

IV.1.1.c. Extraction de la glucosamine

Les principaux dérivés de la chitine et les mécanismes pour les produire sont schématisés par la **figure.IV.1**. Par désacétylation, la chitine est convertie en chitosane, tandis que la dépolymérisation réduit la chitine en oligomères. Si le procédé est mené à son terme, le polymère est entièrement converti en résidus de glucosamine (Gluc) et/ou glucosamine acétylé (Nac-Gluc). La dépolymérisation appliquée au chitosane produit des oligomères de chitosane puis des unités de glucosamine.

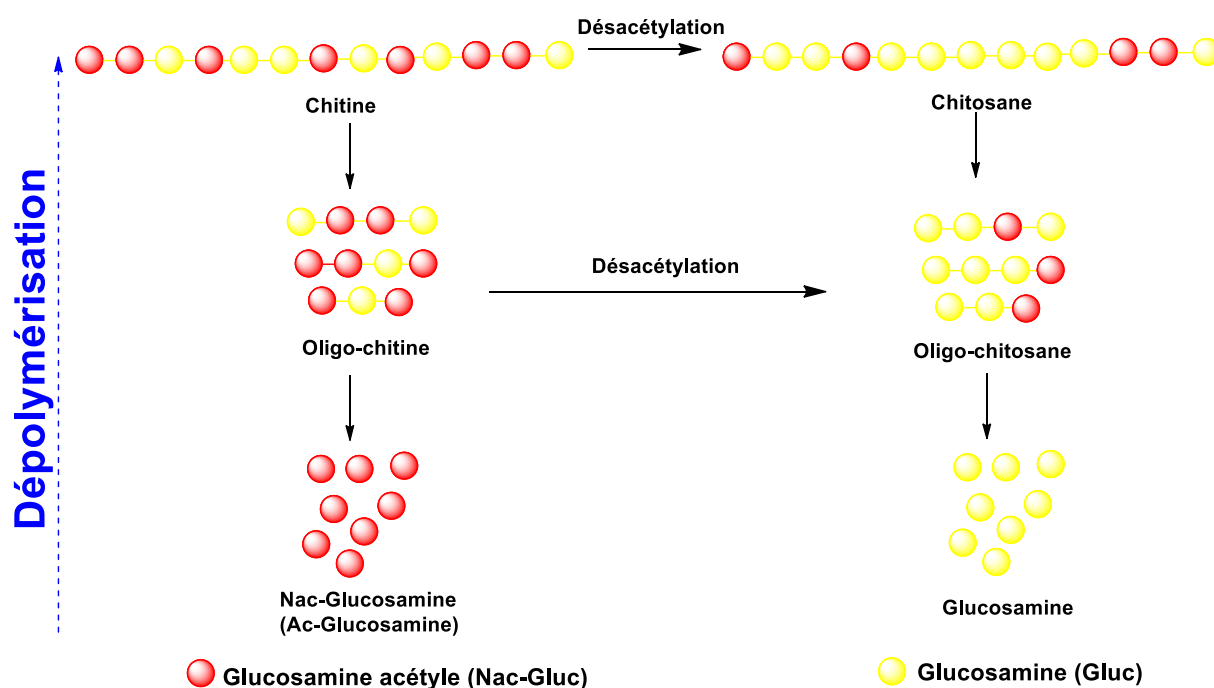


Figure.IV.1. Chitine et dérivés de la chitine

Figure 0-IFigure.II.1. Chitine et dérivés de la chitine

En revanche que, le chitosane et la glucosamine sont davantage commercialisés que la chitine. Or ils subissent d'autres réactions, au cours desquelles il est possible d'abaisser encore la charge protéique.

Hydrolysats Chimiques

À l'heure actuelle, des quantités considérables de la glucosamine due à l'hydrolyse d'acide de la chitosane. L'hydrolyse acide est donc une des voies privilégiées de la production de la glucosamine et la glucosamine-Acétyle, mais pour cela, il convient d'adopter une stratégie de récupération de la glucosamine afin de pouvoir l'utiliser ultérieurement dans l'industrie pharmaceutique et/ou cosmétique.

Cette hydrolyse, qui peut se faire par voie chimique, conduit à une variété de deux produits (glucosamine (Gluc) et la glucosamine Acétyle (Nac-Gluc)). C'est pour ça, on va valoriser la glucosamine et leur dérive présentent dans la chitosane.

Afin d'optimiser les étapes d'extraction, quatre facteur ont été étudiées ; la concentration d'acide HCl, le rapport solide-liquide (S/L), la température et le temps d'agitation.

Protocole de l'hydrolyse de la chitosane en présence d'acide chlorhydrique

Ont été minutieusement mélangées 5g de la chitosane dans des solutions aqueuses d'acide chlorhydrique (HCl) dans un Bécher sous agitateur. Tout au long de l'expérience, le rapport de solide-liquide 1/10 et 1/20. Dans les six essais qui sont réalisés à température entre 25°C et 80°, les échantillons ont été mélangés avec l'acide HCl d'une concentration allant de 0.5 à 1.51%. Ce mélange est filtré par la suite, à l'aide d'un papier filtre, lavé jusqu'à un pH =7 puis séchage. Avec un test de répétabilité 2 fois après chaque essai.

Tableau.IV.5. Plan d'hydrolyse de la chitosane en présence d'acide chlorhydrique

Essais	Concentration HCl (N)	Température (°C)	Temps d'agitation (h)	Rapport solide-liquide (g/mL)
1	0.5	25	1.5	1/10
2	0.5	80	1.5	1/20
3	1	25	0.5	1/10
4	1	80	0.5	1/20
5	1.5	25	3	1/10
6	1.5	80	3	1/20

Plusieurs résultats ont été obtenus afin de choisir les conditions optimales d'extraction de la glucosamine et/ou glucosamine-acétyle, parmi lesquelles :

Lors du premier essai, en une seule étape de concentration 0.5M et temps d'extraction est 1.5 h dans une température ambiante, et autre essai avec les mêmes conditions mais en plusieurs étapes. Il a observé que l'hydrolyse qui réalisée en plusieurs étapes sera plus efficace que celui réalisé en une seule étape. Par plus solutions acides concentrées et temps de réaction plus longs, pas amélioration de l'efficacité de l'hydrolyse réaction a été observée.

D'autre part, que l'élévation de température permet à la fois de réduire de 2 à 3 fois le temps de réaction et la quantité d'acide d'environ 2 fois par rapport à 25°C , les conditions préconisées pour l'hydrolyse sont : une température de 80°C et une concentration d'acide respectives de 1.5M en moins de 3h avec un rapport de solide-liquide est de (1 :10 g/mL). Cependant une hydrolyse ultérieure avec 1 N HCl pendant 30 min à température ambiante et un rapport solide - liquide (1 :10 g/mL).

IV. 2. Conclusion

Un protocole d'extraction a été proposé pour l'obtention de chitine, chitosane et glucosamine et leur dérivé à partir des trois variantes (la poudre de crevette, la poudre de cacahuète et la poudre de maïs). Les analyses par UV-Visible nous ont guidés dans l'amélioration des étapes de ce protocole pour avoir un bon rapport pureté/qualité des produits, en vue de leur utilisation dans le domaine pharmaceutique et cosmétique.

L'étape d'hydrolyse était incomplète ,et aussi l'isolation de la glucosamine à partir de chitosane est très difficile.

IV.3. Activité antioxydant

Dans notre travail, nous avons évalué, *in vitro*, l'activité antioxydante et de la chitine, chitosane et la glucosamine par la mesure de la capacité de piégeage des radicaux libres DPPH'.

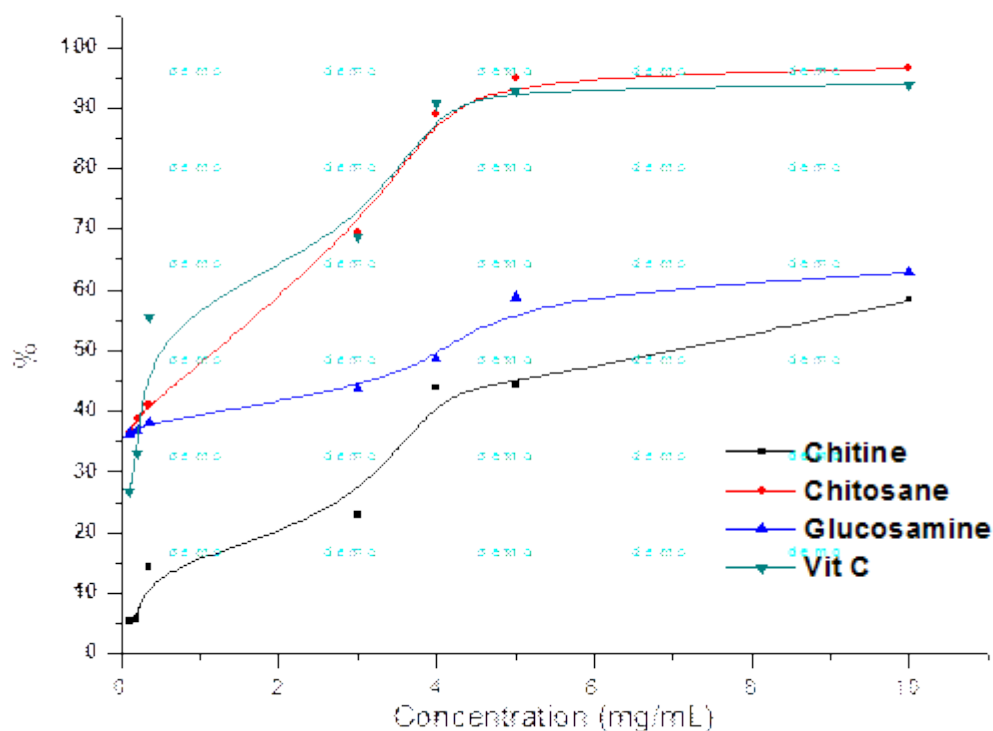


Figure.IV.2. Activité de piégeage du radical DPPH effectuée pour la chitine et la chitosane et la glucosamine et Vit C

À partir des courbes des pourcentages d'inhibition obtenus en fonction des concentrations utilisées, nous avons déterminé les valeurs d'IC₅₀. Le **Tableau.II.6.** Résume les résultats obtenus de l'évaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH•.

Tableau IV.8. Valeurs de IC_{50} de la chitine et la chitosane et la glucosamine et Vit C. et Vit C pour le piégeage du radical DPPH•

	R^2	$y = ax + b$	$IC_{50}(mg/mL)$
Glucosamine	$R^2 = 0.896$	$y = 6.3419x + 37.579$	1.94
Chitosane	$R^2 = 0.778$	$y = 6.7848x + 44.685$	0.75
Chitine	$R^2 = 0.9026$	$y = 2.8577x + 37.286$	4.43
Vit C	$R^2 = 0.6911$	$y = 6.6152x + 44.542$	0.81

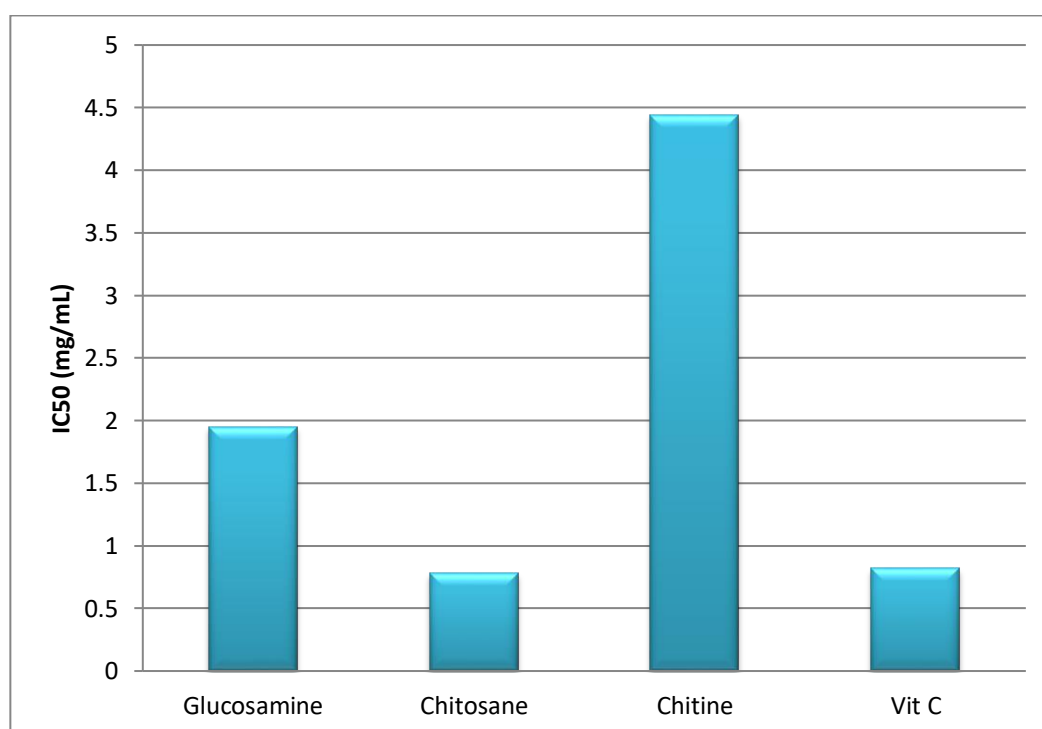


Figure. IV.3. Histogrammes de la IC_{50} de la chitine et la chitosane et la glucosamine et Vit C (référence standard)

Parmi les différents fragments, la chitine représente le fragment de la chitosane le plus actif, leur IC_{50} est de 0.77mg/mL, suivi par la vitamine C (référence standard) avec une IC_{50} de l'ordre de 0.81mg/mL, puis il vient l'extrait de la glucosamine d'ordre 1.94mg/mL, est enfin le fragment chitine avec une IC_{50} de l'ordre de 4.43mg/mL. Les résultats ont montré que, la forte activité, c'est le fragment chitosane par rapport vit C.

Conclusion Générale

Les travaux de recherche actuels sur la glucosamine et leurs dérivés et ses applications montrent que le monde s'appuie plutôt sur les ressources renouvelables que l'on peut trouver en abondance pour les valoriser en raison de son intérêt chez les industries pharmaceutiques et/ou cosmétiques.

Ce travail avait pour but l'optimisation des conditions de l'extraction de glucosamine, à savoir : la concentration de (HCl, NaOH), la température de réaction, le temps d'agitation et le rapport solide /liquide en utilisant un plan d'expérience. Le plan élaboré par nos soins après de longues recherches et concertations avec les experts du domaine n'a pas pu être réalisé vue les contraintes actuelles, à savoir le temps et le stratège suivie, donc notre étude s'est faite sur l'étude de l'extraction de la chitine et ensuite l'extraction du chitosane dans le même contexte. Les études a montré que l'extraction de la chitine et de la chitosane est très influencée par les facteurs étudiés, à savoir, une déminéralisation avec une température de 50-80°C, concentration d'HCl de 1.5 M et un temps de réaction supérieur 2h avec un rapport - liquide (1 :20 g/mL) à pH neutre. Une déprotéinisation avec 2.5 M de NaOH, une température de 60 à 70°C dans un temps de réaction de 4h et un rapport solide-liquide (1 :20 g/mL).

Enfin, la désacétylation peut être optimisée à une concentration de 70% NaOH, température 122°C et un temps de 4h avec un rapport solide-liquide (1 :20 g/mL). Une décoloration, le peroxyde d'hydrogène à une concentration de 0,135%, rapport solide/solvant (p/10v)(1/10).

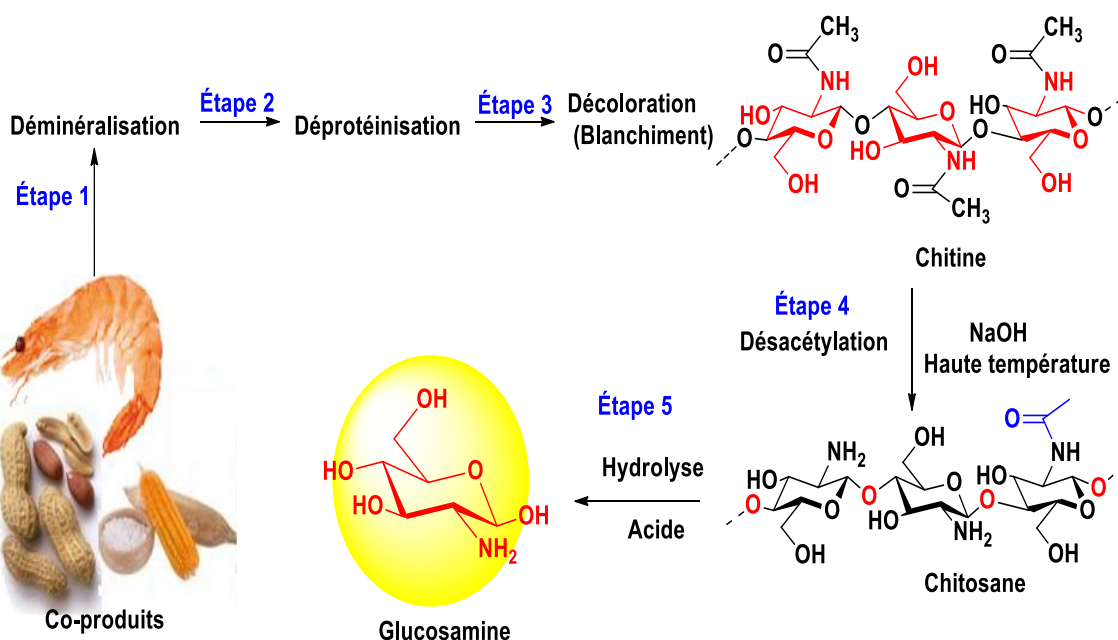
Les analyses physicochimiques des travaux antérieurs montrent des résultats satisfaisants, à savoir un taux de protéines et de cendres très faible et un DD plus important pouvant atteindre 88%.

De manière significative, une étude des propriétés de piégeage des radicaux libres des composés à révéler que le chitosane possédait des activités antioxydantes considérables. Enfin, la méthode d'extraction de la glucosamine utilisée peut être considérée comme une alternative prometteuse aux méthodes existantes. Cela est dû à sa grande sélectivité chimique, à ses rendements satisfaisants, à sa facilité de manipulation et à son faible coût en termes de réactifs utilisés.

À la lumière des résultats obtenus durant notre étude, la possibilité de la présence d'autres activités biologiques et/ou thérapeutiques pour la chitine et glucosamine native et/ou modifiée, peut être étudiée dans éventuelles recherches

Résumé

La glucosamine est une substance bioactive d'origine naturelle obtenue à partir de déchets de coproduits de déchets des crevettes, la poudre de maïs et les coquilles d'arachide et par un processus chimique impliquant la déminéralisation, la déprotéinisation et la désacétylation. La présente étude consistait à optimiser et d'évaluer les conditions de production de la glucosamine et de les caractériser. Les expériences ont porté sur les effets des interactions de cinq facteurs. Notre résultat est fait sur l'étude des bibliographies s'inscrivant dans le même contexte. D'après, la synthèse des résultats des bibliographies, on peut conclure que : Les valeurs optimales obtenues expérimentalement une déminéralisation avec une concentration d'HCl (1.5N), de température d'agitation (50 à 80°) pendant (2 à 3h). La valeur la plus élevée de degré désacétylation (DD) (88%) sous condition optimisé de (70%) d'hydroxyde de sodium à température (121-122°C) pendant (3 à 4h). L'évaluation de l'activité antioxydante de (chitine) et (chitosane) a été étudiée en utilisant plusieurs tests *in vitro* : activité de piégeage contre le radical DPPH. Les résultats indiquent que le chitosane reflète un pouvoir antioxydant plus important comparé à la chitine.



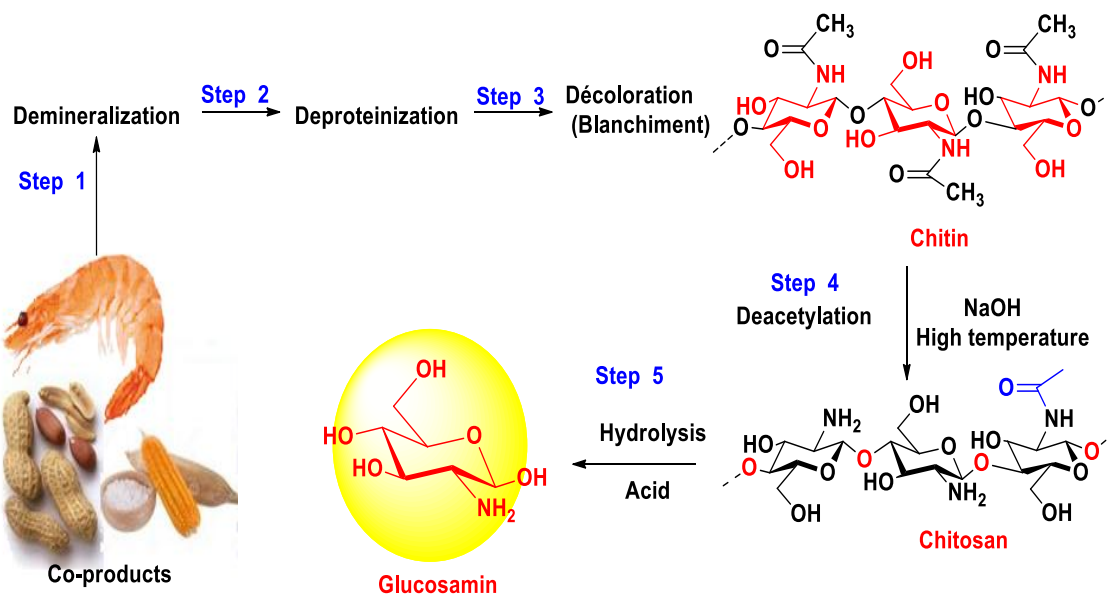
Résumé graphique

Mots clés: Chitine, Chitosane, Glucosamine, Déchets, Coproduit, Extraction.Extraction.

Abstract

Glucosamine is a naturally occurring bioactive substance obtained from waste from co-products of shrimp waste, corn powder and peanut shells and through a chemical process involving demineralization, deproteinization and deacetylation. The purpose of this study was to optimize and evaluate the production conditions of glucosamine and to characterize them. Experiments have focused on the effects of interactions of five factors. Our result is made on the study of bibliographies in the same context. From the synthesis of the bibliography results, it can be concluded that: The optimal values obtained experimentally demineralization with a concentration of HCl (1.5N), agitation temperature (50 to 80°) for (2 to 3h). The highest degree deacetylation (DD) value (88%) under optimized condition of (70%) sodium hydroxide

at temperature (121-122°C) for (3-4 h). The evaluation of the antioxidant activity of (chitin) and (chitosan) was studied using several in vitro tests: trapping activity against the radical DPPH. Results indicate that chitosan reflects a higher antioxidant potency compared to chitin



Graphical abstract

.Key words: Chitin, Chitosan, Glucosamine, Waste, Coproduct, Extraction. Extraction