UNIVERSITE D'ANTANANARIVO

DOMAINE SCIENCES ET TECHNOLOGIES

****

MENTION: PROCEDES ET ECOLOGIE INDUSTRIELLE

****

Parcours: GENIE DE L'EAU ET GENIE DE L'ENVIRONNEMENT (2GE)

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER II EN CHIMIE

PRODUCTION DE CHITINE ET DE CHITOSANE A PARTIR DES DECHETS DE CRABES DE MANGROVE *(Scylla serrata)* PAR VOIE CHIMIQUE : APPLICATION AU TRAITEMENT DES EAUX USEES D'IMPRIMERIE

Présenté le 08 Novembre 2016

Par HERINARIVO Arnaudine Françoise

Devant la commission d'examen composée de:

Président :	**Monsieur RAVELONANDRO Pierre Hervé, Professeur Titulaire à la Faculté des Sciences de l'Université d'Antananarivo**
Examinateur :	**Monsieur ANDRIANAINARIVELO Mahandrimanana, Maître de Conférences à la Faculté des Sciences de l'Université d'Antananarivo**
Rapporteur :	**Monsieur MONG Yves Jean Michel, Maître des recherches au Centre National de Recherche sur l'Environnement.**
Co-rapporteur :	**Monsieur RAJOELISOA Lala, Chercheur au Centre National de Recherche sur l'Environnement.**

« Mais par la grâce de Dieu, je suis ce que je suis, et sa grâce envers moi n'a pas été vaine ; loin de là, j'ai travaillé plus qu'eux tous, non pas moi toutefois, mais la grâce de Dieu qui est avec moi ».

I CORINTHIENS 15 :10

Amen !

DEDICACE:

Je dédie ce modeste travail à:

A mes chers parents, qui m'ont donné la vie et m'ont éduqué et m'ont beaucoup soutenu moralement et financièrement tout au long de mes études, qui m'ont conseillé et sacrifié pour moi.

A mes sœurs qui ne cessent de m'aider et de m'encourager et qui sont toujours là pour moi.

A toute ma famille

A tous mes meilleurs amis

Que Dieu vous protège

Françoise

REMERCIEMENTS

En premier lieu, je tiens à remercier notre Dieu tout puissant pour sa bienveillance et son aide miraculeuse, de m'avoir donné la force et la volonté à finaliser ce travail.

J'adresse mes plus chaleureux remerciement à Madame **REJO-FIENENA Félicitée**, Directeur du Centre National de Recherche sur l'Environnement de m'avoir offert l'opportunité de réaliser mon stage de mémoire de Master II au sein du CNRE, pour la réalisation de ce travail.

Je remercie très sincèrement et profondément, Monsieur **MONG Yves Jean Michel**, Maître des Recherches et Chef du laboratoire d'Analyse et de Contrôle des Aliments et des Eaux (LACAE),Chercheur au CNRE, Rapporteur de ce mémoire, pour son encadrement, son support moral et scientifique, malgré ses obligations professionnelles.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude et ma profonde reconnaissance à Monsieur **RAJOELISOA Lala**, Co-rapporteur de ce mémoire, pour ses conseils et son aide précieuse, ses remarques et son encouragement, et d'avoir suivi de près mes travaux, malgré ses lourdes occupations.

Mes vifs remerciements à toute l'équipe du CNRE pour leurs aides techniques et leurs accueils chaleureux le long de ce stage.

Je remercie profondément Monsieur **RAVELONANDRO Pierre Hervé**, Professeur Titulaire à la Faculté des Sciences de l'Université d'Antananarivo et Responsable du parcours « Génie de l'Eau et Génie de l'Environnement», à l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider le jury pour la soutenance de mon mémoire, pour sa disponibilité et sa patience.

Je remercie humblement Monsieur **ANDRIANAINARIVELO Mahandrimanana** , Maître de Conférences à la Faculté des Sciences de l'Université d'Antananarivo, Chef de Mention et Responsable du parcours « Chimie des Matériaux » pour les remarques qu'il a porté à ce travail en acceptant de l'examiner, de le juger et de le critiquer.

Je tiens également à remercier la société Manda S.A., pour sa collaboration, de nous avoir fourni les déchets de crabes de boue pour cette étude.

Je désire également à remercier Monsieur **LALAONJANAHARY Jerinah Julien**, Chef de Département Technique et Production de l'Imprimerie Luthérienne pour sa collaboration, de nous avoir accepté de travailler sur ses eaux usées.

Mes remerciements à mes chers parents et mes sœurs, à toute ma famille et mes amis pour leur soutien, aide et encouragement.

Merci

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS i
TABLE DES MATIERES ii
GLOSSAIRE vii
LISTE DES ABREVIATIONS viii
LISTE DES TABLEAUX ix
LISTE DES FIGURES x
LISTE DES PHOTOS xii
LISTE DES ANNEXES xiii
INTRODUCTION 1
PARTIE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE 2
I.1. Généralités sur les crabes (scylla seratta) 3
I.1.1. Classification du *Scylla seratta* 3
I.1.2. Filière crabe à Madagascar 4
I.1.3. Commercialisation et exploitation 4
I.1.4. Mortalité et pertes après capture dans la filière crabe 5
I.1.5. Les coproduits marins 6
I.1.5.1.Définition 6
I.1.5.2. Les coproduits de crustacés et de crabes, les principaux produits dérivés 6
I.1.5.3. Valorisation des coproduits de crustacés : production de chitine et chitosane 6
I.2. La chitine 7
I.2.1. Historique 7
I.2.2. Définition et structure de la chitine 7
I.2.2.1. Structure chimique de la chitine 8
1.2.2.2. Structure cristalline de la chitine 8
I.2.2.3. Structure physique de la chitine 10
I.2.3. Caractéristiques de la chitine 11
I.2.3.1. Caractéristiques physico-chimiques 11
I.2.3.1.1. Degré de N-acétylation 11
I.2.3.1.2. La solubilité 11
I.2.3.2.Caractéristiques chimiques 12
I.2.3.3. Caractéristiques biologiques 12
I.2.3.3.1. Biocompatibilité 12
I.2.3.3.2. Biodégradabilité 12

I.3. Le chitosane 13
I.3.1. Historique 13
I.3.2. Définition et structure chimique du chitosane 13
I.3.3. Propriétés du chitosane 13
I.3.3.1. Propriétés physico-chimiques 13
I.3.3.1.1 Le degré de désacetylation(DDA) 14
I.3.3.1.2 La viscosité 14
I.3.3.1.3. Masse molaire 14
I.3.3.1.4.Solubilité 15
I.3.3.2.Propriétés chimiques 15
I.3.3.2.1. Caractère acido-basique 15
I.3.3.2.2. Formation de complexe (agent de chelation) 15
I.3.3.2.3.Echangeur d'ions 16
I.3.3.3. Propriétés biologiques 16
I.3.3.3.1. Biocompatibilité 16
I.3.3.3.2. Biodégradabilité 16
I.3.3.3.3. Cicatrisant 16
I.4. Méthodes d'extraction de la chitine et du chitosane 16
I.4.1. Méthode par voie chimique 17
I.4.1.1. La déminéralisation 17
I.4.1.2. La déprotéinisation 17
I.4.1.3. La décoloration ou dépigmentation 18
I.4.2. Méthode par voie enzymatique 18
I.4.2.1. Voie fermentaire 18
I.4.2.2. Déprotéinisation et déminéralisation enzymatiques 18
I.4.2.3.Désacétylation et dépolymérisation enzymatique 19
I.5. Domaines d'applications de la chitine et du chitosane 19
I.6.Généralités sur l'imprimerie 21
I.6.1. Les différents types d'encres 21
I.6.2. Principaux constituants d'encres d'imprimerie 21
I.6.3. Pigments et colorants utilisés en imprimerie 22
I.6.3.1.Les pigments 22
I.6.3.2. Les colorants 22
I.6.4.Impact environnemental des encres d'imprimerie 23

I.7. Méthodes de traitement des colorants 23
I.7.1. L'adsorption par charbon actif 23
I.7.2. La filtration membranaire 24
I.7.3. Le procédé de coagulation-floculation 24
I.7.3.1 .Processus de coagulation-floculation 24
I.7.3.2.Types de coagulants 25
I.7.3.2.1.Les coagulants chimiques 25
I.7.3.2.2.Les coagulants d'origine naturelle 26
I.7.3.3.Types de floculant 26
I.7.3.3.1.Floculant d'origine minérale 26
I.7.3.3.2. Floculant d'origine naturelle 26
I.7.3.3.3. Floculant chimique 26
I.8. Quelques études récentes effectuées sur la production de la chitine et du chitosane .. 27
PARTIE II: MATERIELS ET METHODES 38
II.1. Matériels 39
II.2. Méthodes 42
II.2.1. Analyses physico-chimiques des matières premières 42
II.2.1.1. Préparation des matières premières à analyser 42
II.2.1.2. Mesure du pH 43
II.2.1.3. Détermination de la teneur en eau 44
II.2.1.4. Détermination de la teneur en cendres brutes 44
II.2.1.5. Détermination de la teneur en protéines 45
II.2.1.6. Dosage des éléments minéraux: Ca, Mg, K, Na par spéctrophotométrie d'absorption atomique 48
II.2.1.7. Détermination de la teneur en lipides 49
II.2.2. Extraction de la chitine par voie chimique 50
II.2.2.1. Déminéralisation 51
II.2.2.2. Filtration-lavage 51
II.2.2.3. Déprotéinisation 52
II.2.2.4. Filtration-lavage 52
II.2.2.5. Blanchiment ou dépigmentation 53
II.2.2.6. Séchage et broyage de la chitine 53
II.2.3.Obtention du chitosane 53
II.2.3.1. Désacétylation 54

II.2.3.2. Filtration-lavage 54
II.2.3.3. Séchage et purification du chitosane 54
II.2.4. Analyses physico-chimiques de la chitine 55
II.2.5. Caractérisation du chitosane 56
II.2.5.1. Balayage par spectromètre UV-VIS 56
II.2.5.2. Dosage par FTIR 57
II.2.5.3. Dosage pH-métrique 59
II.2.5.4. Dosage conductimétrique (Assaad, 2006 et Mourad, 2012) 59
II.2.5.4.1. Dosage conductimétrique basique 60
II.2.5.4.2. Dosage conductimétrique acide 60
II.2.6. Paramètres d'évaluation de l'efficacité du traitement 61
II.2.6.1. Les paramètres physiques 61
II.2.6.1.1.Matières en suspension (NFT 90-105, 1978) 61
II.2.6.1.2.Température 62
II.2.6.1.3.Le pH(NFT 90-008, 1953) 62
II.2.6.1.4.Turbidité 62
II.2.6.1.5. La Couleur 63
II.2.6.1.6. La conductivité (NF EN 27888, ISO 7888, 1994) 63
II.2.6.1.7. Demande Biochimique en Oxygène (AFNOR NFT 90-103, 1975) 63
II.2.6.1.8. Demande Chimique en Oxygène (NFT 90-101, 1988) 64
II.2.7. Essai de traitement du rejet d'imprimerie 65
PARTIE III: RESULTATS ET DISCUSSIONS 66
III.1. Analyses physico-chimiques des matières premières 66
III.1.1. Préparation de la matière première 66
III.1.2. Analyses physico-chimiques de la matière première 66
III.1.2.1. Valeurs du pH 66
III.1.2.2. Parmi les matières minérales 67
III.1.2.3. Parmi les matières organiques 67
III.1.2.4. Teneur en eau 67
III.2. Analyses physico-chimiques de la chitine 68
III.2.1. Rendement en chitine 68
III.2.2. Caractéristiques physico-chimiques de la chitine 69
III.2.3. Indicateurs de performances de la réaction 71
III.3. Caractérisation de la chitine 72

III.4. Caractérisation du chitosane 75
III.4.1. Balayage par spectrophotométrie UV-VIS 76
III.4.2. Dosage par FTIR 78
III.4.2.1. Interprétation des spectres FTIR 80
III.4.2.2. Calcul du DDA par dosage FTIR 81
III.4.2.3. Spectres FTIR de la chitine et du chitosane 82
III.4.3. Dosage conductimétrique 83
III.4.3.1. Dosage conductimétrique basique et dosage pH-métrique 83
III.4.3.2. Dosage conductimétrique acide 84
III.5. Discussions sur l'extraction de la chitine et l'obtention du chitosane 85
III.6. Paramètres d'évaluation de l'efficacité du traitement 86
III.7. Discussions sur le procédé de coagulation-floculation 89
CONCLUSION 90
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES ET WEBOGRAPHIES 92
ANNEXES xiv

GLOSSAIRE

Agglomération: assemblage de particules faiblement liées et facilement dispersés, un cas particulier d'agrégation.

Agrégation: phénomène d'assemblage issu de la collision de particules primaires (germes ayant grossi), qui gardent leur individualité.

Agrégats: ensemble des petites particules liées de façon rigide et dont elles adhèrent entre elles.

Bioresorbable: qui peut se faire disparaître progressivement de manière naturelle.

Cellulose: glucide constitué d'une chaîne linéaire de molécules de D-Glucose, principal constituant des végétaux, de formule brute $(C_6H_{10}O_5)_n$

Décorticage: processus à la machine ou à la main, qui consiste à séparer la chair de carapaces à crabes.

Mangrove: une zone d'interpénétration marine et terrestre dit marais maritimes, formation végétale des régions littorales tropicales composée d'un peuplement de plusieurs espèces végétales (palétuviers), bien adaptées à des conditions particulières de salinité de l'eau de mer recevant régulièrement de l'eau douce amenée par les cours d'eaux continentales.

Palétuvier: arbres caractéristique des mangroves, aux racines aériennes très développées et tolérant les variations de salinité.

Polymères: système formé par un ensemble de macromolécules de même nature chimique, molécule constitué de la répétition de nombreuses sous-unités.

Polysaccharides: polymères constitués de plusieurs oses liés entre eux par des liaisons osidiques. Parmi les plus répandus du règne végétal, il y a la cellulose et l'amidon, tous deux polymères du glucose.

LISTE DES ABREVIATIONS

CB: Cendres brutes

CC: Chitosane commercial

CCa: Chitosane obtenu de la carapace de crabe

ChC: Chitine obtenue à partir de la carapace de crabe

ChPa: Chitine préparée de la patte de crabe

ChPi: Chitine obtenue de la pince de crabe

CNRE: Centre National de Recherche sur l'Environnement

CPa: Chitosane obtenu de la patte de crabe

CPi: Chitosane obtenu de la pince de crabe

DA: Degré d'Acétylation

DBO_5: Demande Biochimique en Oxygène en cinq jours

DCO: Demande Chimique en Oxygène

DDA: Degré de Desacétylation

DM: Degré de Déminéralisation

DP: Degré de Déprotéinisation

FTIR: Fourier Transformed InfraRed spectroscopy

MES: Matières en suspension

MPRH: Ministère chargé de la Pêche et de la Ressource Halieutique

MS: Matière sèche

PE: Prise d'essai

pH: potentiel Hydrogène

SAA: Spectrophotomètre d'absorption atomique

UV-VIS: Ultraviolet-Visible

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Classification du Scylla seratta 3
Tableau 2: Pourcentage de chitine dans les êtres vivants marins..... 10
Tableau 3: Domaines et applications de la chitine et du chitosane..... 20
Tableau 4: Propriétés physicochimiques de la carapace Parapentes oncirostres 36
Tableau 5 : Matériels et réactifs utilisés..... 39
Tableau 6: Valeurs du pH des poudres de déchets de crabes..... 66
Tableau 7: Teneur en cendres et en quelques éléments minéraux 67
Tableau 8: Teneur en protéines et en lipides..... 67
Tableau 9: Teneur en eau..... 67
Tableau 10: Caractéristiques physico-chimiques de la chitine 70
Tableau 11: Principales bandes des spectres IRTF de la chitine 74
Tableau 12: Valeurs du DA de la chitine..... 75
Tableau 13: Concentration du chitosane..... 78
Tableau 14: Principales bandes caractéristiques du chitosane..... 80
Tableau 15: Valeurs du DA et DDA du chitosane..... 81
Tableau 16: Valeurs du DDA du chitosane obtenu par dosage conductimétrique et pH-métrique 84
Tableau 17: Résumé des valeurs du DDA du chitosane 85
Tableau 18: Résultats d'analyses avant et après traitement..... 87

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Destination des crabes capturés (Source : MPRH, 2009)..... 5
Figure 2: Structure moléculaire de la chitine (MOURAD F., 2012). 8
Figure 3: Structure moléculaire et représentation conventionnelle de α-chitine (A) et β-chitine (B) et représentation conventionnelle de δ-chitine (C) (ARBIA, 2010)..... 9
Figure 4: Structure chimique d'un monomère de chitine ou de chitosane (Rinaudo). 10
Figure 5: Réaction de désacétylation de la chitine..... 12
Figure 6: Structure chimique du chitosane (Mourad, 2012) 13
Figure 7: Méthode d'extraction de la chitine et obtention du chitosane (Zemmouri, 2008).. 19
Figure 8: Dosage pH-métrique du chitosane..... 29
Figure 9: Spectre FTIR du chitosane 29
Figure 10: Spectre UV du chitosane, concentration de 1% ; solvant d'acide acétique (2%) ; cellule de 1 cm 32
Figure 11: Spectres FTIR de la chitine et du chitosane (1 mg chitosane (chitine)/100 mg KBr). 33
Figure 12: Dosage conductimétrique basique du chitosane, m (chitosane)=0,15g; C (HCI) =0,1 N ; C (NaOH) =0,1 N. 33
Figure 13:Dosage conductimétrique acide du chitosane, m (chitosane) = 0,15g ; C(HCI) =0,1N 34
Figure 14: Dosage pH-métrique du chitosane, m (chitosane) = 0,135 g ; C (NaOH) = 0,05 N ; C (HCI) = 0,1 N. 34
Figure 15: Spectre FTIR de la chitine pure (préparée par voie chimique) (Sigma)..... 37
Figure 16: Spectre FTIR de la carapace brute..... 37
Figure 17: Extraction de la chitine et obtention du chitosane par voie chimique 55
Figure 18: Parts des produits obtenus après décorticage 66
Figure 19: Pourcentage de chitine dans les déchets de crabes 69
Figure 20: Indicateurs de performance de la réaction de déminéralisation..... 72
Figure 21: Spectre FTIR de la chitine obtenue à partir de la carapace de crabe..... 73
Figure 22: Spectre FTIR de la chitine obtenue à partir de la pince de crabe. 73
Figure 23: Spectre FTIR de la chitine obtenue à partir de la patte de crabe 73
Figure 24: Spectre UV du chitosane commercial, concentration 1% dans 2% d'acide acétique. 76
Figure 25: Spectre UV de chitosane obtenu à partir de la carapace de crabe, concentration 1% dans 2% d'acide acétique..... 76

Figure 26: Spectre UV de chitosane obtenu à partir de la patte de crabe de mangrove, concentration1% dans 2% d'acide acétique. 77
Figure 27: Courbe d'étalonnage A=f (C) 78
Figure 28: Spectre FTIR du chitosane obtenu à partir de la carapace de crabe 79
Figure 29: Spectre FTIR du chitosane obtenu à partir de la pince de crabe 79
Figure 30: Spectre FTIR du chitosane obtenu à partir de la patte de crabe 79
Figure 31: Spectre FTIR du chitosane commercial 80
Figure 32: Spectre FTIR de la chitine et celle du chitosane commercial 82
Figure 33: Dosage conductimétrique basique du chitosane 83
Figure 34: Dosage pH-métrique du chitosane 84
Figure 35: Dosage acide du chitosane 84
Figure 36: Bassin de traitement d'eau usée dans l'imprimerie luthérienne 88

LISTE DES PHOTOS

Photo 1: Décorticage du crabe 42
Photo 2: Carapaces (a), pattes (b) et pinces (c) de crabes prêt à sécher 43
Photo 3: Séchage des carapaces, pinces et pattes de crabes ; avant séchage (a), après séchage (b) 43
Photo 4: Broyeur (a), broyage des déchets de crabes séches (b), poudre obtenue prêt à employer (c) 43
Photo 5: Four à moufle électronique HERAEUS 45
Photo 6: Minéralisateur à 12 postes BUCHI Digestion Unit K-435 46
Photo 7: Distillateur Kjeldahl BUCHI 47
Photo 8: Un spectromètre d'absorption atomique à flamme VARIAN 49
Photo 9: Montage de l'appareil Soxhlet 50
Photo 10: Déminéralisation des coproduits de crabes 51
Photo 11: Déprotéinisation du produit déminéralisé 52
Photo 12: Désacétylation de la chitine 54
Photo 13: Spectrophotomètre UV-VIS BECKMAN DU-64 56
Photo 14: Une presse hydraulique SHIMADZU (a), appareil mettant en poudre fine l'échantillon (b), pastille de KBr contenant l'échantillon à étudier, extraite du moule, et prête à l'emploi (c) 58
Photo 15: Spectrophotomètre FTIR SHIMADZU 8400S 59
Photo 16: Poudre de chitine obtenue à partir de carapaces (a), pinces (b) et pattes (c) de crabes. 68
Photo 17: Poudre de chitosane provenant respectivement de la carapace (a), pince (b) et patte (c) de crabe 75
Photo 18: Produit obtenu après déminéralisation et déprotéinisation mal lavé. 86
Photo 19: Eau traité (à gauche), eau avant traitement (à droite). 89

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1: Localisation principals zones de production de crabs à Madagascar xiv
Annexe 2: Norme Malagasy sur les rejets des rejets d'effluents liquides..... xvi
Annexe 3 : Equilibres des systèmes colloïdaux xvii
Annexe 4: Bandes des photos xix

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Madagascar figure encore parmi les pays les moins développés du monde, malgré ses richesses en ressources naturelles et ressources humaines. Madagascar est un pays très riche en ressources halieutiques. Les mangroves malgaches constituent 20% des mangroves africaines et 2% de celles du monde (Zbigniew K. et al., 2014). Un des habitants les plus intéressants de l'écosystème de mangrove est le crabe de boue *Scylla serrata.*

Cependant, le taux de mortalité dans la filière crabe est très élevé, il peut atteindre 32% du niveau moyen de mortalité cumulé pour le pays entier, selon le programme Smartfish. Selon les mêmes sources, les pertes cumulées de la production de crabe après capture est de 50% en 2014. On estime que 45% à 60% du poids de crabes entiers sont des déchets (Rakotoarisoa, 2014).

Ces déchets donnent des mauvaises odeurs et constituent une source de pollution pour notre environnement. Cependant, ces déchets peuvent contenir des substances valorisables, ils représentent d'énormes ressources de chitine et de chitosane, qui ont des divers domaines d'application (Randrianasolo, 2003).

C'est dans ce contexte que le CNRE (Centre National de Recherche sur l'Environnement) en collaboration avec la société Manda S.A., ont choisi d'entreprendre notre étude portant sur le thème : **«Production du chitosane à partir des déchets de crabes de boue *(Scylla serrata)* : application au traitement des eaux usées d'imprimerie».** L'objectif de cette étude est de valoriser les déchets de crabe de mangrove à Madagascar en vue de traitement des eaux usées. Ce travail s'intéresse à l'extraction de la chitine dans les carapaces, pinces et pattes de crabes, ainsi que la transformation de la chitine en chitosane, afin d'aboutir à l'élimination des colorants dans le rejet d'imprimerie.

Pour ce faire, la méthode d'extraction de la chitine peut être effectuée par voie chimique et par voie enzymatique. La méthode utilisée pour cette étude est la voie chimique. Pour atteindre ces objectifs, ce mémoire sera divisé en trois parties :

— La première partie est consacrée à l'étude bibliographique relative aux généralités du crabe de boue, à la chitine et au chitosane, et des méthodes de traitements des rejets contenant des colorants.

— La deuxième partie présente les matériels et méthodes utilisés lors de la réalisation des différentes expériences.

— La troisième partie décrit les résultats obtenus accompagnés d'interprétation et des discussions.

Enfin, une conclusion rassemble les résultats pertinents de cette étude avec une proposition de quelques perspectives et recommandations.

PARTIE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Généralités sur les crabes (scylla seratta)

L'un des habitants les plus intéressants de l'écosystème de mangrove est le crabe *Scylla serrata*. Il est connu sous les noms communs de crabe de mangrove, crabe de boue ou crabe de palétuvier. Ce crabe est l'une des espèces la plus grande et la plus prisée pour leur chair. Leur durée de vie dans de l'eau ou mer va de 8 à 15 ans.

I.1.1. Classification du *Scylla seratta*

Le crabe appartient à l'embranchement des Arthropodes et à l'immense classe des Crustacés. C'est un représentant de l'ordre des Décapodes, créatures, qui comme lui, portent cinq paires de pattes thoraciques. Le *Scylla serrata* est classé comme indiqué ci-dessous (Rakotoarisoa, 2014) :

Tableau 1 : Classification du Scylla seratta

	Classe
Règne	Animal
Embranchement	Arthropodes
Sous-embranchement	Euarthropodes
Groupe	Mandibulates
Classe	Crustacés
Sous-classe	Malacostracés
Ordre	Eucarides
Famille	Décapodes
Sous famille	Brachyoures
Genre	Scylla
Espèce	Serrata
Nom commun	crabe de boue ou crabe de palétuvier ou crabe de mangrove
Nom malgache	Drakaka

Le genre *Scylla serrata* dénombre quatre principales espèces de crabes des palétuviers : le *Scylla serrata*, le *Scylla ollivacea*, le *Scylla tranquebaricas* et le *Scylla paramamosasain*

I.1.2. Filière crabe à Madagascar

Les forêts de mangroves sont les importantes surfaces dans l'Océan Indien occidental. Madagascar possède 325 000 ha de mangroves, son potentiel en *Scylla serrata* est estimé à 7 500 tonnes par an (Zbigniew, 2012). Actuellement, seul un tiers de cette capacité est exploité. La chute des captures de crevettes, suite à la surexploitation des stocks, a poussé certains pêcheurs de mangroves à s'orienter vers l'exploitation du *Scylla serrata* (Rakotoarisoa, 2014). Pendant la période de fermeture de la pêche crevettière presque tous les pêcheurs s'adonnent à cette activité. De plus, la pêche aux crabes, tout comme le reste de la pêche traditionnelle, est libre d'accès et attire des nouveaux venus. Néanmoins, les zones plus facilement accessibles donnent les premiers signes d'une surexploitation (baisse des rendements de pêche et raréfaction de gros calibre). La haute saison en disponibilité de crabes se situe entre janvier et avril, et ce pratiquement pour toutes les zones de production (à part pour la baie de Bombetoka, où cette période se situe entre février et mai et pour Sahamalaza, entre décembre et mars). La filière crabe tient la quatrième place parmi les produits halieutiques d'exportation après les crevettes, les langoustes et les céphalopodes (Smartfish, 2014).

I.1.3. Commercialisation et exploitation

L'exploitation des crabes représente une grande partie de l'activité halieutique de Madagascar. Pour ce qui est de la production nationale de crabes, elle est passée de 500 tonnes en 1985 à 3500 tonnes en 2013 (Smartfish, 2014). 20% des captures de crabes sont écoulées sur le marché local, tandis que les 75% sont actuellement exportées vers des pays asiatiques tels que la Chine, Singapour et la Thaïlande, et l'Europe (voir Figure 1) , soit en crabes vivants (1 à 2%), soit en morceaux (70%) ou en chair (28%) et environ 5% sont autoconsommées par les pêcheurs et leurs familles (MPRH, 2009). Le circuit des crabes vendus localement à Antananarivo est assez complexe ; il faut passer, le plus souvent, par un mareyeur, un sous-collecteur/ collecteur, avant d'atteindre le niveau du vendeur au marché ou du vendeur porte à porte.

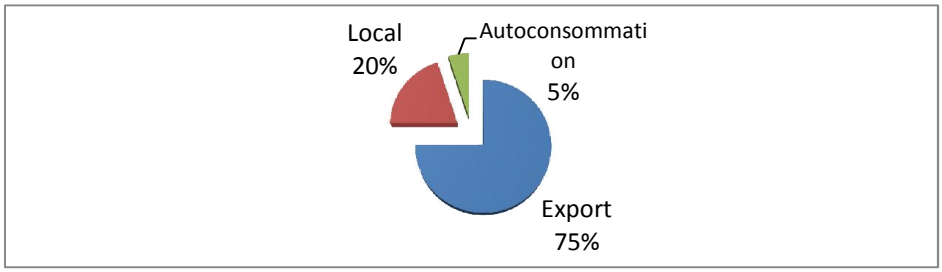


Figure 1: Destination des crabes capturés (Source : MPRH, 2009)

I.1.4. Mortalité et pertes après capture dans la filière crabe

A Madagascar, la production de crabes s'élève à 3500 tonnes par an. Cependant, la filière crabe est confrontée à un taux mortalité post-capturé élevé, entre le moment de la pêche et leur arrivée à destination finale (usine ou marché). La quantité des crabes morts après la capture reste élevée à Madagascar, qui fait face à un taux de mortalité atteignant jusqu'à 22% (selon le programme smartfish). La plupart des crabes sont morts avant d'arriver sur le marché, dus à l''utilisation de moyens de stockage et de transport inadéquats, qui sont à l'origine de l'écrasement des crabes du fait de l'entassement des «sobika» ou des sacs utilisés. Les principales causes de cette mortalité élevée des crabes sont l'organisation de la collecte et la durée prolongée de manipulation des crabes entre la pêche et la livraison finale (Zbigniew et al., 2014). Pour certaines zones de pêche plus éloignées et difficilement accessibles (souvent uniquement par mer) cette durée atteint 4 à 7 jours. Près de 20% de crabes meurent après qu'ils aient été achetés aux pêcheurs. Pour autant, une autre menace pèse sur la filière crabe :la déforestation intense des mangroves, conjuguée aux effets du changement climatique.

Le taux de mortalité élevé dans la filière du crabe a pour conséquences : l'exploitation peu rationnelle des ressources en crabes ; la valorisation réduite des captures; une perte de revenus pour les pêcheurs, mareyeurs, sous-collecteurs/collecteurs et sociétés d'exportation des crabes vivants. De plus, les crabes une fois morts ne sont pas seulement inconsommables, mais ils ne peuvent même pas être utilisés pour la production de provende, à cause de toxines qui se développent rapidement chez les crabes morts (Le Reste, 1976).

I.1.5. Les coproduits marins

I.1.5.1.Définition

Les coproduits sont définis comme les parties non utilisées et récupérables lors des opérations traditionnelles de production (Randriamahatody, 2011). Les déchets des industries de la pêche et de l'aquaculture sont parmi les rejets des industries agroalimentaires des produits aquatiques d'origine animale. Ils sont issus de la transformation des poissons pour la consommation humaine et sont constitués des têtes, des viscères, de la chute de parage (filetage), de la peau, de l'écaille, des arêtes et des queues de poissons (Razafindrakoto, 2015). Pour les crevettes, ils engendrent les têtes, la carapace et la queue et pour les crabes, la carapace, les pinces et les pattes.

I.1.5.2. Les coproduits de crustacés et de crabes, les principaux produits dérivés

Ce sont des crustacés entiers qui se sont détériorés lors du stockage, du conditionnement et de la transformation. Ce sont aussi des sous- produits du conditionnement (des têtes, carapaces, etc.). Les déchets sont en majorité des substrats biodégradables, valorisables et recyclables. Pour les crabes, les déchets sont constitués par les carapaces, les pinces, les pattes et les crabes morts. A partir des coproduits de crabe (crustacé) on peut avoir les produits dérivés suivants : un concentré aromatique, la chitine/chitosane, la farine protéique, l'engrais et l'hydrolysat peptidique. (Rakotoarisoa, 2014).

I.1.5.3. Valorisation des coproduits de crustacés : production de chitine et chitosane

La valorisation des déchets issus de l'exploitation marine des crustacés est réalisée par l'extraction à l'échelle industrielle de la chitine par différents traitements effectués sur les coques de crevette et de crabe (Le Devedec, 2008). La chitine constitue la ressource la plus abondante dans les coproduits des crustacés. Ce polysaccharide ancien constitue l'exosquelette des crustacés (Le Roux, 2012). Les domaines d'applications de la chitine et de ses dérivés ne cessent de s'étendre (Ifremer, 2012). Le Japon est le premier producteur de chitine (FAO

Globefish, 2008). Pour la plupart des applications, la chitine n'est pas utilisée directement. Elle est convertie, principalement en chitosane et chitooligosaccharides.

Le crabe produit des toxines dès qu'il meurt, ce qui le rend totalement impropre à la consommation humaine. Une des valorisations des déchets de crustacés, est l'extraction de la chitine et l'obtention du chitosane.

I.2. La chitine

I.2.1. Historique

En 1811, le chercheur français Henri BRACONNOT a isolé pour la première fois, à partir des parois cellulaires des champignons, la chitine. Il appela cette substance «fungina» (Arbia, 2010). En 1823, en étudiant la cuticule de l'exosquelette d'un coléoptère, un produit insoluble, Auguste ODIER a extrait ce même polymère et le nomma ≪chitine≫, terme dérivé du grec, qui signifie tunique ou enveloppe (Randrianasolo, 2003). ODIER publia un article sur les insectes dans lequel il avait noté que la chitine est présente aussi bien dans la structure des insectes que dans celle des plantes. La chitine, un polymère qui est le principal constituant structural de l'exosquelette des arthropodes comme les crustacés et les insectes. En 1843, LASSAIGNE a démontré la présence de l'azote dans la chitine. En 1878, LEDDHEROSE a pu démontrer que la chitine était naturellement synthétisée à partir du glucosamine et de l'acide acétique. La production de la chitine a débuté en 1920, mais la structure des biopolymères (chitine et chitosane) n'a été identifiée que 50 ans plus tard à travers la cristallographie et la spectroscopie infrarouge. A partir de 1948, MATSUSSIHMA déposait un brevet d'invention pour la production de glucosamine à partir de carapaces de crabes. Mais ce n'est qu'à partir des années 1970 que ces polymères ont suscité un réel intérêt (Zemmouri, 2008). Depuis 1992, un groupe de chercheurs sur la chitine et le chitosane de l'université de Liège a travaillé sur la mise au point d'un procédé innovant et non polluant.

I.2.2. Définition et structure de la chitine

La chitine est un polymère formé d'une répétition d'unités de N-acétyl-D-glucosamine, de formule brute $(C_8H_{13}NO_5)_n$. C'est un biopolymère linéaire à chaine

normale proche de la cellulose. La chitine est après la cellulose, le second polysaccharide le plus abondant dans la nature (Randrianasolo, 2003). Elle se rencontre en abondance dans les carapaces des crustacés et des insectes, ainsi que dans la paroi des champignons, levures et certaines algues. La chitine est l'un des principaux composants de l'exosquelette des insectes et autres arthropodes (crustacés, arachnides, etc.) (Le Devedec, 2008). Elle constitue le principal constituant de la paroi cellulaire de beaucoup de champignons ainsi que dans des carapaces de crustacés tels que : homards, crevettes et crabes, et dans de nombreux insectes. Il faut savoir que la chitine n'existe pas sous une forme pure dans la nature : elle est toujours mélangée à d'autres substances (protéines, lipides et des produits minéraux comme le $CaCO_3$ et pigments).

I.2.2.1. Structure chimique de la chitine

La chitine ou poly N-acétyl-D-glucosamine est un polysaccharide dont les unités sont liées entre elles par des ponts β-1,4 glycosidiques. Elle est naturellement désacétylé au-dessus de 5% et plus (Mourad, 2012).

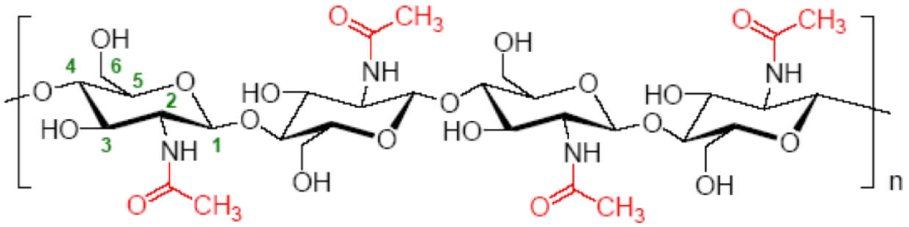
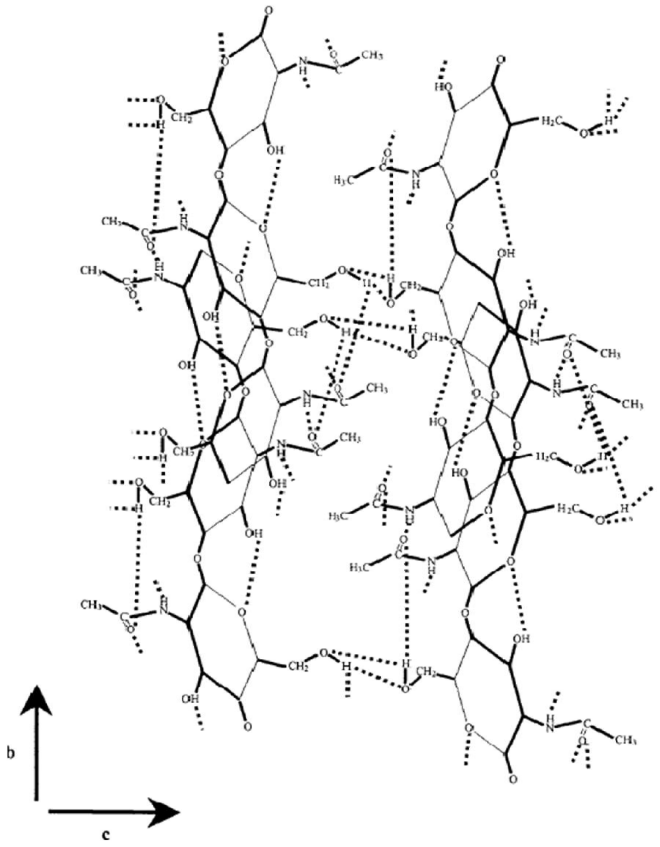


Figure 2: Structure moléculaire de la chitine (MOURAD F., 2012).

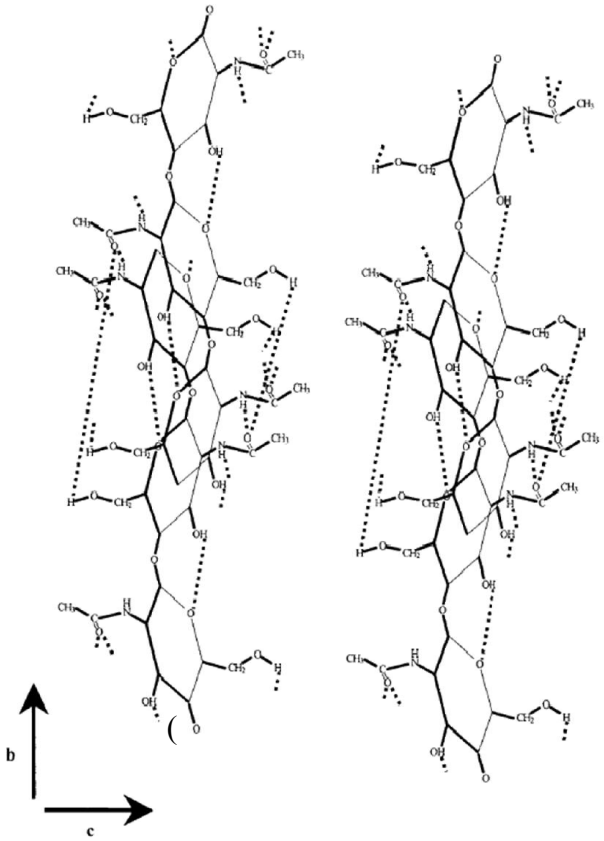
1.2.2.2. Structure cristalline de la chitine

La chitine est un produit renouvelable, non toxique, hypoallergique et surtout biodégradable et par conséquent non polluante (Crini. et al, 2009). Cependant, la chitine possède une structure cristalline polymorphe. Il existe trois sortes de chitine (Durand et al, 2010) :

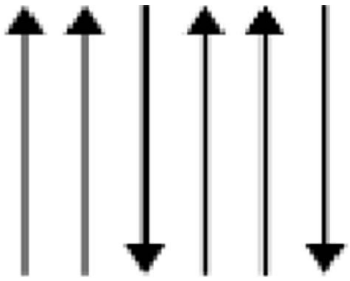
- **α-chitine** : chaînes antiparallèles
- **β-chitine** : chaînes parallèles
- **γ-chitine :** deux chaînes parallèles et une chaîne antiparallèle



(A)



(B)



(C)

Figure 3: Structure moléculaire et représentation conventionnelle de α-chitine (A) et β-chitine (B) et représentation conventionnelle de δ-chitine (C) (ARBIA, 2010)

Elles sont différenciées par l'organisation de leurs chaînes polymères. L'α-chitine est la plus abondante, mais il est possible d'obtenir la β-chitine à partir de l'α-chitine par un traitement convenable.

Le tableau 2 suivant montre le pourcentage de la chitine dans les êtres vivants (Mokrani, 2013):

Tableau 2: Pourcentage de chitine dans les êtres vivants marins

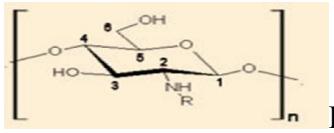
Source de chitine	Pourcentage de chitine en %
anatife *(Lepasan atifera)*	7
araignée de mer *(Maia squinado)*	16
calamar *(Loligovulgaris)*	40
crabe marbre *(Grapsus marmoratus)*	10
crabe rouge *(Portunus puber)*	10
crevette *(Palaemon fabricius)*	22
écrevisse *(Astacus fluviatilis)*	36
homard *(Homarus vulgaris)*	17
langouste *(Palinurus vulgaris*)	32
mante de mer *(Squillamantis)*	24
petite cigale de mer *(Scyllarus arctus)*	25
seiche *(Sepiaofficinalis)*	20

Source : Mokrani, 2013

I.2.2.3. Structure physique de la chitine

La chitine se présente sous forme de microfibrilles, avec une organisation qui peut-être non parallèle pour l'α chitine, parallèle pour la β chitine et mixte pour la γ chitine (Durand et al, 2010).

La structure moléculaire de la chitine ou du chitosane consiste en un enchaînement linéaire d'unités de N-acétyl-β-D-glucosamine ou de β-D-glucosamine liées en (1→4)



R= -H ou – $COCH_3$

Figure 4: Structure chimique d'un monomère de chitine ou de chitosane (Rinaudo).

Cette structure correspond à des séries de copolymères liés par des liaisons (1→4) où R peut être l'un ou l'autre des deux groupements suivants: -NH- ou -NH-CO-CH_3.Cependant, la chitine a des propriétés très intéressantes qui la différencient des autres polymères.

I.2.3. Caractéristiques de la chitine

I.2.3.1. Caractéristiques physico-chimiques

Les caractéristiques physico-chimiques de la chitine sont très fortement dues aux caractères polysaccharidiques des polymères. La chitine est caractérisée par son degré d'acétylation, par sa masse molaire, et sa solubilité.

I.2.3.1.1. Degré de N-acétylation

Le degré d'acétylation (DA) est un paramètre fondamental qui influence les propriétés des biopolymères chitineux (Arbia, 2010). Pour étudier la structure chimique, les propriétés des copolymères, il est important de déterminer le DA. Il est défini comme étant le nombre d'unités de glucopyranose de la chaîne de biopolymère ayant un groupement N-acétyle. Lors du processus d'extraction de la chitine, 5 à 15% de désacétylation est provoqué par le traitement alcalin, on parlera de la chitine lorsque le DA est supérieur à 50% (Mignotte et al., 2012).

I.2.3.1.2. La solubilité

Du point de vue chimique, la chitine est insoluble aussi bien dans l'eau que dans des solvants usuellement utilisés pour la cellulose. Elle est insoluble dans les acides dilués, les bases concentrées ou diluées et les solvants organiques les plus courants. Mais elle est soluble dans les mélanges diméthylformamide (DMF)/chlorure de lithium(LiCl) ou diméthylacétamide (DMAc)/LiCl. Elle est également soluble dans l'acide chlorhydrique, l'acide sulfurique, l'acide acétique et l'acide phosphorique à 78-97%. Cependant, la solubilité dépend de la source de chitine (Crini et al., 2009).

I.2.3.1.3. Le poids moléculaire

L'un des facteurs important pour la caractérisation de la chitine, est son poids moléculaire. Mais la détermination de la masse molaire nécessite la mise en solution du polymère (Randrianasolo, 2003). La masse molaire initiale de la chitine est de l'ordre de 800 000 à 10^6 g/mol et elle est en général acétylée. La connaissance de tel paramètre est nécessaire pour les usages industriels (voir les applications de la chitine). Il varie entre 1,03 et 2,5 MDa. Le pourcentage d'azote dans la chitine représente environ de 6,89% de sa masse moléculaire (Arbia, 2010).

Sa masse molaire moyenne est de (203,19)n. où n représente le degré de polymérisation.

I.2.3.2.Caractéristiques chimiques

L'hydrolyse en milieu basique de la chitine permet de donner le chitosane

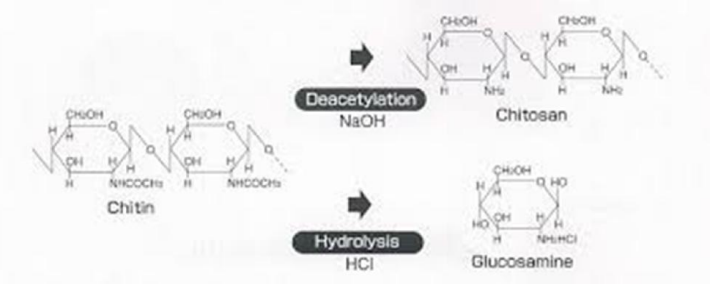


Figure 5: Réaction de désacétylation de la chitine

La présence de doublets électroniques sur l'atome d'oxygène et l'atome d'azote de l'amide procure à la chitine la faculté d'être un substituant nucléophile et peut générer des réactions de substitution nucléophile sur des sites électrophiles.

Exemple: synthèse du N, O-Carboxymethylchitine(NOCC) par la réaction de substitution nucléophile.

I.2.3.3. Caractéristiques biologiques

Biologiquement, la chitine présente les caractéristiques suivantes : non toxique, biodégradable, bioresorbable, biocompatible : (ayant une compatibilité remarquable avec le tissu de l'être vivant), anticoagulant, cicatrisant, bactériostatique, agent hydratant (elle apporte de l'eau et évite la déshydratation), capteur efficace de métaux lourds intéressant vis-à-vis des peaux allergiques, excellente tolérance, action sur la régénération cellulaire (Zemmouri, 2008).

I.2.3.3.1. Biocompatibilité

La chitine n'a aucun caractère antigénique, c'est pourquoi elle est biocompatible avec les tissus vivants.

I.2.3.3.2. Biodégradabilité

La chitine est biodégradable, elle est hydrolysée par une série d'enzymes telles les chitinases, le lysozyme et les glucanases.

Une des dérivés de la chitine la plus connue et qui suscite de nombreux intérêts est le chitosane.

I.3. Le chitosane

I.3.1. Historique

Charles ROUGET a découvert le «chitosane», dérivé de la chitine en 1859, alors qu'il chauffait la chitine avec du KOH concentré à température élevée, il a pu donc démontrer que certains traitements chimiques sur la chitine, pouvaient la modifier.

En 1894 Hoppe-Seyler a nommé le chitosane, la « chitine modifiée». Le chitosane, dérivé désacétylé de la chitine, est un polysaccharide non ramifié du type poly-, β (1-4)-D-glucosarnines partiellement acétylé. Tandis que la chitine est produite largement par un grand nombre d'organismes vivants (Assaad, 2006).

I.3.2. Définition et structure chimique du chitosane

Le chitosane est un polysaccharide formé des copolymères de glucosamine et N-acétylglucosamine. Le chitosane est obtenu par N-désacétylation partielle de la molécule de chitine. Le chitosane est obtenu par désacétylation de la chitine, principalement des carapaces de crustacés (Crini et al, 2009). Leur structure chimique, représentée sur la figure 6, résulte de l'enchaînement d'unités de répétition N-acétyl-D-glucosamine et D-glucosamine liées en β, (1→4).Le degré d'acétylation (DA) différencie la chitine du chitosane. Bien que le terme «chitosane» soit habituellement limité à toute chitine suffisamment N-déacétylée pour être soluble en milieu acide dilué, il n'existe pas de nomenclature officielle proposant la limite précise entre les deux termes. En conséquence, tout échantillon avec des degrés d'acétylation résiduels (DA) ≤ 30% est nommé chitosane.

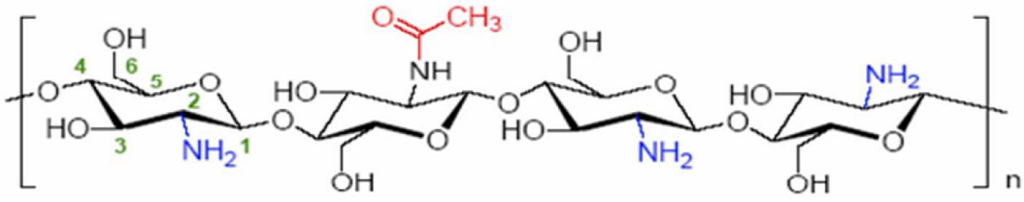


Figure 6: Structure chimique du chitosane (Mourad, 2012)

I.3.3. Propriétés du chitosane

I.3.3.1. Propriétés physico-chimiques

Le chitosane est caractérisé physico chimiquement par le degré de désacétylation, la masse moléculaire, la viscosité et la solubilité (Arbia, 2010).

I.3.3.1.1 Le degré de désacetylation(DDA)

Le degré de desacetylation de la chitine influe sur toutes les caractéristiques physico-chimiques du chitosane (masse moléculaire, viscosité, solubilité…). Le DDA est la plus importante caractéristique du chitosane. Il existe quatre (04) méthodes de techniques d'analyse pour déterminer le DDA (Moukrani, 2013):

- Balayage par spectrophotomètre UV
- Dosage FTIR
- Dosage conductimétrique
- Dosage pH-métrique

En général, une seule méthode, analytique ou spectrométrique, n'est pas suffisante pour caractériser les biopolymères, chitine et chitosane.

Le DDA de la chitine varie de 60% à 100% selon les conditions de désacetylation utilisées (Mourad, 2012).

I.3.3.1.2 La viscosité

Seul ici le chitosane est concerné par la viscosité en solution, la chitine étant insoluble. La viscosité du chitosane dans une solution diluée d'acide acétique demeure très variable. Elle dépend notamment de quatre paramètres (Randrianasolo, 2003) :

- *degré de desacétylation* : plus il est desacetylé, plus le nombre de groupement amine libre augmente entrainant ainsi une augmentation de sa solubilité et une grande viscosité.
- *Concentration*: la viscosité croit en fonction de la concentration
- *Température:* la viscosité diminue lorsque la température augmente, comme pour tous les autres polysaccharides ;
- *pH* : la viscosité est forte dans les domaines de pH acide.
- *Masse molaire*

Il existe différentes méthodes pour déterminer la viscosité. La plus employée est «la viscosimètre».

I.3.3.1.3. Masse molaire

Les chitosanes obtenus industriellement ont une masse molaire de l'ordre de 200 000 $g.mol^{-1}$ et un DA allant de 2 à25% (Marie-Beatrice, 1998). Pour le chitosane, la

masse molaire et la répartition des motifs N-acétylés le long de la chaîne sont dépendantes de la méthode de désacétylation utilisée.

I.3.3.1.4.Solubilité

Le chitosane sous forme d'amine libre reste insoluble dans l'eau, dans les acides concentrés, dans les bases et dans les solvants organiques. Mais il est soluble dans les acides dilués dans des mélanges d'eau-alcool. Sa solubilité varie en fonction du degré de desacetylation et de la méthode de desacetylation mise en oeuvre.

I.3.3.2.Propriétés chimiques

I.3.3.2.1. Caractère acido-basique

Le chitosane est soluble dans les acides dilués grâce à la protonation de ses groupements fonctionnels amines. En fait, la solubilité du chitosane dans différentes solutions dépend de sa forme acido-basique. A titre indicatif, les solubilités caractéristiques du chitosane se présentent : sous forme d'amine libre ($R\text{-}NH_2$), soluble dans les solutions acides, insoluble à pH>6,5, solubilité limitée dans H_3PO_4, insoluble dans H_2SO_4, insoluble dans les solvants organiques, sous forme d'amine cationique ($R\text{-}NH_3^+$), soluble à pH<6,5 avec une consistance visqueuse, les solutions forment des gels avec des polyanions, soluble dans des mélanges d'eau- alcool. La constante d'acidité pKa de la forme amine cationique $R\text{-}NH_3^+$ dépend du degré de desacétylation et du degré de neutralisation du groupe NH_3^+correspondant (La Fleur, 2008).

I.3.3.2.2. Formation de complexe (agent de chelation)

Le chitosane a une propriété complexant, il est complexé avec les ions métalliques. En fait, le chitosane est connu pour posséder de bonnes propriétés chélatantes (Mignotte et al., 2012); les groupements amines $-NH_2$ retrouvés sur les chaînes saccharidiques montrent de fortes interactions avec les ions métalliques. La présence de groupements amine libre et de groupements hydroxyle, porteur de doublets libres d'électrons, permet à la molécule de chitosane de former des complexes de coordination avec la majorité des cations métalliques (Pb^{2+},Ni^{2+}, Fe^{3+}, Co^{2+} , etc.) pour lesquels il joue le rôle de collecteur.

I.3.3.2.3.Echangeur d'ions

En milieu acide dilué, la forme cationique $R\text{-}NH_3^+$ confère au chitosane un rôle d'échangeur d'ion.

I.3.3.3. Propriétés biologiques

Le chitosane est biocompatible, biodégradable, renouvelable, filmogène, agent hydratant, non toxique, bonne tolérance biologique, hydrolysé par le lyzosyme donc biorésorbable, cicatrisant, agent bactéricide et fongicide.

I.3.3.3.1. Biocompatibilité

Le chitosane est un copolymère normal, parfaitement compatible avec le tissu vivant (Durand et al , 2010).

I.3.3.3.2. Biodégradabilité

Les enzymes chitinase et chitosanase font dégrader la chitine et le chitosane en oligopolymères facilement assimilables par l'organisme des êtres vivants (Durand et al , 2010).

I.3.3.3.3. Cicatrisant

Les films formés par le chitosane sont perméables à l'air. Cet avantage lui facilite essentiellement la régénération cellulaire tout en protégeant les tissus cellulaires contre l'attaque des microbes. En plus, le chitosane dispose d'un effet biostimulant sur la régénération de ces tissus (Zemmouri, 2008).

Le paragraphe suivant montre les étapes à suivre lors de l'extraction de la chitine et du chitosane.

I.4. Méthodes d'extraction de la chitine et du chitosane

La chitine est obtenue à partir de carapaces des crustacés, déchets de l'industrie alimentaire. Les carapaces sont traitées avec de l'acide pour la déminéralisation puis avec une base pour éliminer les protéines. Le résidu obtenu constitue la chitine. Il existe deux méthodes (02) d'extraction de la chitine et du chitosane (Le Roux, 2012):

- ✓ Extraction par voie chimique
- ✓ Extraction par voie enzymatique

Dans ce travail, on va surtout privilégier l'extraction par voie chimique.

I.4.1. Méthode par voie chimique

La production de chitine repose sur la purification de la matière première et l'élimination du carbonate de calcium et des protéines.

L'extraction chimique consiste en un traitement acide pour la déminéralisation et un traitement alcalin pour la déprotéinisation.

Il est important de bien préparer la matière première pour ne pas dégrader la chitine.

Il y a quatre étapes à suivre dans le procédé d'extraction de la chitine et du chitisane, à savoir:

- ✓ La déminéralisation;
- ✓ La déprotéinisation;
- ✓ Le blanchiment;
- ✓ La désacétylation et la dépolymérisation.

I.4.1.1. La déminéralisation

La déminéralisation de la chitine s'effectue habituellement avec une solution d'acide diluée. Le traitement acide élimine les minéraux. On utilise généralement du HCl, afin de transformer les minéraux non solubles de la carapace en sels solubles (principalement des carbonates et des phosphates).Le carbonate de calcium, principal composé minéral de la carapace, réagit avec le HC1 pour former du chlorure de calcium, de l'eau et du gaz carbonique comme décrit dans la réaction (I.1) suivante (Duval, 2008) :

$$2\,HCl_{(aq)} + CaC0_{3(s)} \Longrightarrow CaCl_{2(aq)} + H_20_{(1)} + C0_{2(g)} \quad \textbf{(I.1)}$$

Puis, les sels formés sont séparés de la chitine par filtration suivie de lavage.

La réaction avec le carbonate de sodium est achevée lorsque le dégagement de CO_2 cesse.

I.4.1.2. La déprotéinisation

Un traitement basique permet d'éliminer les protéines par solubilisation. La déprotéinisation de la chitine a pour principe de solubiliser les protéines dans la chitine dans une solution aqueuse, de manière douce ou sevère. Les carapaces des crustacés sont broyées, puis les protéines ainsi qu'une partie des colorants naturels sont extraits par une solution de soude ou de potasse. Le réactif le plus adéquat est l'hydroxyde de potassium (KOH) (Mourad, 2012). Mais il est préférable d'utiliser l'hydroxyde de sodium (NaOH) pour des raisons d'économie et technique.

I.4.1.3. La décoloration ou dépigmentation

La coloration des produits peut être due par implication des groupes azotés et les aldéhydes, voire réaction de Maillard. Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), un agent de blanchiment courant, peut être mélangé avec du HCl (Duval, 2008). En effet, tout comme les deux précédentes étapes, les conditions de décoloration induisent une altération de la structure de la chitine, qui se traduit par une réduction du poids moléculaire. Les autres agents de blanchiment sont l'hypochlorite de sodium (NaClO), le permanganate de potassium ($KMnO_4$), l'acétone, l'éthyle-acétate et l'acide oxalique. Le peroxyde d'hydrogène est utilisé pour hydrolyser le chitosane, afin d'augmenter sa solubilité, et privilégie l'éthanol pour le blanchiment (Monette et al., 2007).

I.4.1.4. La désacétylation et la dépolymérisation

L'étape la plus délicate sur la préparation du chitosane à partir de la chitine, est la désacétylation. Elle nécessite la réduction de la longueur de la chaîne du polymère, c'est-à-dire, la substitution des groupements acétyles pour aboutir au chitosane (Crini et al. ,2009). Il est possible d'obtenir différents chitosanes à partir d'une même chitine, en variant la durée de la désacetylation et/ou la température de la désacetylation (Mignotte et al., 2012).

Des traitements acides et basiques sévères catalysent la dépolymérisation et la désacétylation et aboutissent au chitosane et aux oligosaccharides (J.Brine,). La désacétylation se fait par une solution de soude concentrée ou de potassium concentré, ensuite, le chitosane obtenu peut de nouveau être dissout dans une solution d'acide organique afin de le purifier.

I.4.2. Méthode par voie enzymatique

I.4.2.1. Voie fermentaire

Le principe consiste à faire usage d'enzymes et de bactéries, par exemple, *Pseudomonas aeruginosa*K-187, source traditionnelle pour la production de protéases, chitinases et lysozymes (Le Roux, 2012). L'intérêt est de fermenter les coproduits des crustacés.

I.4.2.2. Déprotéinisation et déminéralisation enzymatiques

Les enzymes sont largement exploitées par les industries, en particulier les protéases. Leur activité principale est la lyse des liaisons peptidiques. Elles ciblent également les liaisons esters.

I.4.2.3. Désacétylation et dépolymérisation enzymatique

On utilise de chitinases ou chitosanylases pour la désacétylation enzymatique. La dépolymérisation enzymatique ou chitinolyse est plus spécifique et plus contrôlable que la dépolymérisation chimique (Le Roux, 2012).

Les chitinases et chitosanases hydrolysent les liaisons glycosidiques.

Les étapes d'extraction de la chitine et d'obtention du chitosane sont resumés dans la figure 7 ci-dessous (Zemmouri, 2008) :

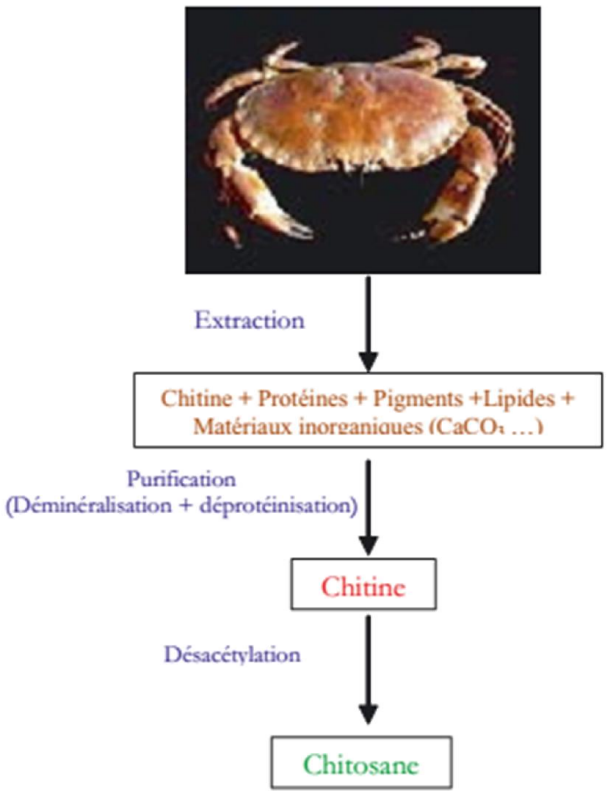


Figure 7: Méthode d'extraction de la chitine et obtention du chitosane (Zemmouri, 2008)

Les domaines d'applications de la chitine et celles du chitosane sont cités dans le paragraphe ci-dessous :

I.5. Domaines d'applications de la chitine et du chitosane

La chitine et le chitosane suscite d'un réel intérêt dans divers domaines : l'agriculture, l'agroalimentaire, la médecine, le traitement d'eaux usées, le cosmétique, etc. Le tableau suivant cite quelques intérêts :

Tableau 3: Domaines et applications de la chitine et du chitosane

Domaines	Applications
Agriculture	Mécanisme défensive, Stimule la croissance des plantes, Enrobage (protection), Libération de fertilisants et nutriments, inducteur des mécanismes de défense des plantes, engrais, activateurs de croissance et de germination (RANDRIANASOLO, 2003).
Agroalimentaire	conservateurs et additifs alimentaires (LE DEVEDEC, 2008)
Alimentaire	Non digestible (diète aux fibres) Hypocholestérolémiant, Agent de conservation Stabilisateur, Antimicrobien, Enrobage, protecteur (fruits), adjuvants alimentaires comme épaississants (LE ROUX, 2012).
Biomédical	Sutures chirurgicales, Implants dentaires, Peaux artificielles, Reconstructions osseuses (ASSAAD, 2006).
Biopharmaceutique	Lmmuno stimulants, Antitumoraux, Anticoagulants, Bactériostatiques, Libérations contrôlées (GOGEV, 2003).
Cosmétique	Crèmes, Traitement de l'acné, Produits hydratants, Formulation de dentifrices Formulation de shampooings, crèmes hydratantes et amincissantes, antistatiques, émulsifiantes, filmogènes, hydratantes (LA FLEUR, 2008).
Médecine	cicatrisantes, immunologiques, antitumorales, hémostatiques et anticoagulantes (MOKRANI, 2013).
Traitement d'eaux usées	Polymère écologique, Pouvoirs séquestrant (métaux lourds, colorants etc.) Diminution de la turbidité (ASSAAD, 2006), Diminution des odeurs, Bactéricides, agents de chélation des cations et des ions métalliques, floculantes, récupération des métaux. Le chitosane est un agent de coagulation-floculation (MOKRANI, 2013).

I.6.Généralités sur l'imprimerie

L'imprimerie est un ensemble des techniques et métiers permettant la reproduction et la fabrication d'ouvrages imprimés. L'imprimerie est aussi un établissement où l'on imprime les journaux, les livres, les cartes de visite, les magazines, etc.
L'impression, comme la teinture, est un procédé destiné à appliquer de la couleur sur un support.

Mais l'application de cette couleur dépend du procédé d'impression utilisé. On distingue plusieurs procédés d'impression. Il existe des procédés d'impression traditionnels, des procédés avec forme imprimante (H.B.Verry) à savoir : l'Offset,l'héliogravure, la flexographie,la sérigraphie (Screen printing) et la typographie. Des procédés d'impression numérique (à partir de données numérisées) (http : //bandedecom.com) qui sont: le jet d'encre, la xerographie, et l'impression thermique.

Le paragraphe suivant cite les différents types d'encres utilisées en grandes imprimeries.

I.6.1. Les différents types d'encres

Les encres sont des produits colorés liquides (fluides ou visqueux), utilisés pour l'écriture, le dessin, l'impression ou la décoration, est indispensable à l'impression. Il existe des encres pour l'écriture, encres pour le dessin, encres pour la calligraphie et encres pour l'imprimerie. On distingue (Castaing et al , 2012). Il existe des encres pour impression offset, des encres à solvants, des encres pour procédé jet d'encre et des encres à eau. Cependant, les encres peuvent être fraîches ou demi-fraîches ou siccatives. Cette distinction dépend du mode de séchage des encres (www. Imprimerie-exception.com).

I.6.2. Principaux constituants d'encres d'imprimerie

Les encres d'imprimeries sont constituées par deux produits principaux : une matière solide, ou pigment, qui donne la couleur ; un véhicule, partie fluide, visqueuse ou pâteuse, liant un solvant. Lorsque l'on décrit les différentes techniques d'impression, il convient de faire une distinction entre l'impression avec des pigments (encre noire) et l'impression avec des colorants (encre en couleur). L'encre couleur se compose d'un véhiculant ou solvant (de l'eau et des additifs) dans lequel les colorants sont

dissous. L'encre noire se compose de pigments qui ne dissolvent pas. Certaines imprimantes ont une encre noire de type photographique qui utilise des colorants et non des pigments.

Les différentes encres utilisées pour l'imprimerie sont des mélanges pouvant contenir jusqu'à 20 constituants différents. Quel que soit le procédé d'impression auquel elles sont destinées, leur formule contient toujours les éléments suivants :

- La ***matière colorante*** représente 20% du produit final. Il s'agit du pigment très fin en suspension dans le véhicule ou de colorant soluble dans le véhicule.
- Environ 70% de la composition de l'encre est le ***véhicule***, qui est une phase fluide du produit.
- Environ 10% du produit final, représente les ***additifs***. Ils permettent d'optimiser les caractéristiques de l'encre pendant et après l'impression.

I.6.3. Pigments et colorants utilisés en imprimerie

Les pigments et les colorants sont les principaux constituants d'une encre, puisqu'ils lui confèrent ses caractéristiques optiques.

I.6.3.1.Les pigments

Les pigments sont des colorants minéraux en poudre très fine. Le pigment est une substance colorée, insoluble dans le véhicule de l'encre ou encore dans le milieu dans lequel il est dispersé. Il a une structure cristalline. Le pigment de l'encre permet de traduire l'image colorée souhaitée (www.erudit.com). Le pigment apporte à l'encre sa couleur. Les pigments ne se trouvent pas à l'état moléculaire dans l'encre mais sous la forme d'agglomérats ou d'agrégats .Les différentes catégories de pigments sont : les pigments noirs, les pigments inorganiques, et les pigments organiques.

I.6.3.2. Les colorants

Un colorant est défini comme étant un produit capable de teindre une substance d'une manière durable, il est excessif de penser que la matière possède une couleur intrinsèque. La couleur est avant tout une perception. De nombreux colorants sont utilisés en grandes imprimeries à savoir les : les colorants réactifs, les colorants

acides, les colorants de cuve, les colorants dispersés et les colorants à complexes métalliques :

I.6.4.Impact environnemental des encres d'imprimerie

Les quatre métaux lourds : cadmium, chrome hexavalent, plomb, et mercure, sont réputés dangereux pour la santé humaine. Cependant, des traces de ces métaux lourds sont inclues dans les matières premières des encres d'imprimerie et qui déclenchent la classification dangereuse des rejets d'imprimerie (EuPIA, 2013). Les niveaux de ces 4 métaux lourds dans les véhicules, les emballages et les équipements électriques et électroniques doivent être limités.

Impacts sur l'eau et impacts sur l'air

Pour des raisons techniques et/ou économiques, quelques matières premières, classés dangereuses pour l'environnement aquatique, peuvent être utilisées dans les produits. Dans l'air, les oxydes d'azote, émanant du transport routier, des plantes, etc. réagissent en présence de la lumière du soleil en formant des brouillards photochimiques au niveau du sol (Troposphère) (EuPIA, 2013). Des solvants organiques volatils peuvent accélérer ces effets. Dans les encres, le toluène est le solvant principal, ce qui est dangereux sur l'environnement. Les solvants tels que les hydrocarbures chlorés, sont bien connus pour être nocifs sur de nombreux organismes et pouvant également être bio-cumulables.

Le traitement des encres est donc très important du fait qu'il contient des colorants et des pigments qui sont dangereux sur l'environnement. Il existe de nombreuses méthodes pour traiter les colorants.

I.7. Méthodes de traitement des colorants

Il existe de nombreuses méthodes pour traiter les colorants contenant dans les eaux usées, à savoir le traitement physique, le traitement biologique et le traitement physico-chimique. Quelques traitements physiques sont cités ci-dessous

I.7.1. L'adsorption par charbon actif

Le charbon actif ou d'autres matériaux adsorbants peuvent être utilisés pour éliminer plusieurs colorants des eaux usées. Le charbon actif est le plus communément utilisé

pour réduire la couleur à cause de sa capacité d'adsorption élevée. Il est capable d'adsorber la plupart des colorants (Mansour et al, 2011). Lors de l'adsorption, le colorant est transféré de la phase liquide vers la phase solide. Comme les colorants ne sont pas tous ioniques, la plupart des adsorbants ne peuvent pas réduire tous les colorants. Toutefois, cette technique ne résout pas le problème, elle ne fait que déplacer la pollution de l'état liquide à l'état solide (Samiha, 2012). De plus, ces techniques, non destructives, nécessitent des opérations postérieures onéreuses de régénération et de post traitement des déchets solides.

I.7.2. La filtration membranaire

La filtration sur membrane pilotée par pression hydraulique se décline en microfiltration, ultrafiltration, nanofiltration et osmose inverse. Parmi les quatre types de procédés, la nanofiltration et l'osmose inverse sont les plus adaptés à la réduction partielle de la couleur et des petites molécules organiques, mais l'osmose inverse reste la plus répandue (Oubagha, 2011). La nanofiltration s'applique surtout au traitement des bains de teinture de colorants réactifs en agissant comme un filtre moléculaire, tandis que la microfiltration retient les matériaux colloïdaux tels que les colorants dispersés ou de cuve grâce à une "membrane écran". L'ultrafiltration ne s'applique qu'à la réduction de la DCO et des solides en suspension, et ne se montre réellement efficace qu'en combinaison avec la coagulation/floculation (Bouafia, 2012).

I.7.3. Le procédé de coagulation-floculation

Le procédé de coagulation-floculation est un traitement primaire qui permet de débarrasser les eaux usées des impuretés qu'elles contiennent grâce à la réaction d'émulsion (Mottot, 2000). La coagulation est définie comme étant l'étape de déstabilisation des substances colloïdales de nature minérale et organique, elle a pour but principal de déstabiliser les fines particules en suspension pour ainsi faciliter leur agglomération.

I.7.3.1 .Processus de coagulation-floculation

Les matières colloïdales, présentent des charges de surfaces qui empêchent leur agglomération naturelle d'où la nécessité d'ajouter des agents coagulants pour annuler le potentiel zêta. L'annulation du potentiel zêta aura pour effet la suppression

des forces de répulsion entre les charges électrostatiques (Bennajah, 2007). Pour la déstabilisation des matières colloïdales, on distingue quatre mécanismes de base : la compression de la double couche (coagulation électrostatique). Ce mécanisme consiste à diminuer les forces de répulsion électrostatiques, provoquées par l'ajout d'électrolytes, permet aux colloïdes de se rapprocher suffisamment pour que les forces d'attraction de Van Der Waals prédominent (Achour et al., 2005). Pendant l'adsorption et la neutralisation des charges, les ions positifs des polymères cationiques s'adsorbent à la surface des particules et neutralisent les charges négatives de ces dernières afin de diminuer le potentiel Zêta des colloïdes. Après avoir déstabilisées les matières colloïdales, on y ajoute un floculant qui viendra agréger les agrégats déjà formés par le coagulant. Le floculant a justement pour but d'augmenter la probabilité des contacts entre les particules.

Le procédé de coagulation-floculation peut-être employé pour retirer plusieurs types de substances organiques et inorganiques : les graisses, les huiles, le phosphore, la matière en suspension (MES), les métaux lourds, etc. Ce procédé permet donc la réduction de la demande biochimique et chimique en oxygène (DBO et DCO), de même qu'une réduction des populations bactériennes (Dihang, 2007). Une approche spécifique au type d'effluent traité doit cependant être développée afin d'optimiser le procédé. Les quantités d'agent coagulant requises pour traiter une eau usée dépendent essentiellement des facteurs suivants, soit le pH, l'alcalinité, la concentration en phosphate. De son côté, l'efficacité du procédé de coagulation-floculation repose sur les caractéristiques de l'eau usée à traiter.

I.7.3.2.Types de coagulants

Le coagulant est une substance qui cause l'agglomération des particules fines et permet de former un précipité gélatineux dans l'eau usée pouvant ensuite être retiré.

I.7.3.2.1.Les coagulants chimiques

Les coagulants de type sels métalliques sont utilisés surtout pour la réduction et l'adoucissement de l'eau, pour l'enlèvement des métaux lourds (industrie métallurgique), pour l'enlèvement des huiles, des graisses, du phosphate, des eaux de lavage et d'autres types d'effluent (Assaad, 2006).

Exemples : sulfate d'aluminium, sulfate ferreux, sulfate ferrique, chlorure ferrique

I.7.3.2.2.Les coagulants d'origine naturelle

Un exemple de coagulant d'origine naturelle est l'extrait des graines séchées de Moringa olifeira, une plante tropicale appartenant à la famille des Moringaceae. On obtient un coagulant aux propriétés fortes intéressantes (La Fleur, 2008). Il existe une quarantaine de variétés de cette plante, certaines affichant de meilleures performances dans le traitement des eaux usées. On a aussi d'autres coagulants naturels comme les gommes faites à base de graines de Cassia javahikai pour le traitement des eaux usées d'industrie textile.

I.7.3.3.Types de floculant

Un floculant est un polymère qui emprisonne les matières colloïdales agglomérées et forme ainsi des flocons volumineux qui se déposent par gravité. Il est ajouté après la coagulation pour augmenter davantage la taille et la cohésion des flocs (Mottot, 2000). On distingue plusieurs types de floculant selon leur nature. Au sein de l'industrie chimique, on dispose plusieurs variétés de floculant à savoir le floculant de type polymères (polyélectrolytes) synthétiques : ce sont des composés de haut poids moléculaires de types anioniques, cationiques ou non ioniques. Ils peuvent être employés pour la neutralisation, l'émulsion et /ou pour créer des ponts entre les particules colloïdales.

I.7.3.3.1.Floculant d'origine minérale

Le principal agent floculant d'origine minérale employé dans le domaine du traitement des eaux est la silice activée (La Fleur, 2008). Ce composé offre de bons résultats lorsqu'il est associé au sulfate d'aluminium en eau froide.

I.7.3.3.2. Floculant d'origine naturelle

Les alginates et les amidons sont aussi des agents floculants. L'alginate est un composé provenant des algues marines. Les amidons sont obtenus à partir de la pomme de terre, du tapioca ou d'autres bulbes végétaux (Marie-Beatrice, 1998). Parmi les floculants naturels, on peut citer, les floculants naturels végétaux et les floculants naturels non végétaux comme l'alun et le gypse.

I.7.3.3.3. Floculant chimique

Les floculants à base de produits chimiques connaissent aussi une grande importance au traitement chimique de l'eau (Mourad, 2012). Le sulfate d'Aluminium : possède

une gamme de pH d'utilisation de 5,7 à 7,2. Le chlorure ferrique de gamme de Ph d'utilisation de 5,5 à 8,5. Le WAC (Water Aluminium Chloride) (polychlorure d'aluminium basique formule basique formule brute: De gamme de pH d'utilisation 6 à 7,5.

Le paragraphe suivant, qui se divise en trois sous-paragraphe, résume quelques études éfféctuées par d'autres chercheurs, sur les objectifs de cette étude.

I.8. Quelques études récentes effectuées sur la production de la chitine et du chitosane

Ce paragraphe résume quelques études effectuées par d'autres chercheurs concernant la valorisation des coproduits de crustacés, la fabrication du chitosane et traitement des eaux usées en utilisant comme procédé la coagulation-floculation.

❖ Cette étude effectuée par Olivier MIGNOTTE et al., met en évidence la détermination du taux de désacétylation du chitosane par deux techniques analytiques et quelques détails de l'obtention du chitosane à partir de carapaces de crevettes.

Détermination du degré de désacétylation (DD)

Le chitosane, utilisé pour cette partie, est d'origine commerciale. Le degré de désacétylation est un facteur clef de la complexation. Deux méthodes de détermination sont ici proposées.

- Méthode pH-métrique

La détermination du DD se fait par un dosage en retour d'une solution acide de chitosane.

Peser 0,25 g de chitosane dans un bécher de 100 mL. Ajouter 25,0 mL d'une solution titrée d'acide chlorhydrique à 0,10 mol L^{-1}. Agiter jusqu'à dissolution complète du solide.

- Méthode spectrométrique

La spectroscopie infrarouge permet de déterminer le DD en utilisant des bandes caractéristiques. Une étude infrarouge quantitative est proposée. Tracer le spectre infrarouge du chitosane. Relever les aires ou transmittances des bandes de fréquences 3450 (bande hydroxyle) et 1655 (bande carbonyle de l'amide). Il est préférable de réaliser ces mesures avec des pastilles KBr (40 mg de chitosane + 120 mg de KBr) plutôt que d'utiliser la technique ATR (*Attenuated Total Reflectance*).

- Obtention du chitosane à partir de carapaces de crevettes

Cette dernière partie décrit l'extraction du chitosane à partir des carapaces de crevettes.

— Préparation

Décortiquer des crevettes cuites pour obtenir au moins 100 g de carapace. Les mettre dans un bécher contenant de l'eau distillée (60 °C) pendant dix minutes sous agitation, puis filtrer. Les placer ensuite dans un erlenmeyer avec de l'éthanol (40 °C) pendant dix minutes sous agitation, puis filtrer et sécher. Broyer finement les carapaces à l'aide d'un moulin à café électrique ou à défaut un mixeur. Peser la matière sèche (45 g de matière sèche permettent d'obtenir 8 à 10 g de chitine).

— Déminéralisation

Introduire la poudre de carapace obtenue dans un ballon contenant 100 mL d'une solution d'acide chlorhydrique à puis chauffer à reflux pendant quinze minutes. Filtrer sur büchner.

— Déprotéination

Introduire le solide recueilli dans un erlenmeyer contenant 50 mL d'une solution de soude à 10 %(2). Placer au bain-marie à 35 °C pendant trente minutes. Filtrer sur büchner ou centrifuger si nécessaire. Rincer avec une solution d'acide chlorhydrique à0, 1mol L^{-1} jusqu'à pH neutre puis avec de l'éthanol.

— Dépigmentation

Introduire le solide dans un bécher contenant 100 mL une solution d'eau de Javel à environ 3 % de chlore actif et agiter pendant cinq minutes. Filtrer sur büchner. Rincer avec de l'eau distillée puis avec de l'éthanol.

— Désacétylation

Mettre 8 g de chitine dans un ballon de 250 mL et ajouter 100 mL d'une solution d'hydroxyde de sodium à 40 %. Chauffer au reflux pendant une heure. Filtrer sur büchner ou sur filtre plissé puis rincer avec de l'eau distillée jusqu'à pH neutre. Rincer avec de l'éthanol. Sécher et peser (environ 4 g récupérés).

Les degrés de désacétylation des chitosanes obtenus à l'aide de ces deux procédés sont différents. En effet, les paramètres expérimentaux (temps de chauffage, concentration de la base et température) ne sont pas identiques et influent sur l'efficacité de la désacétylation de la chitine. Le deuxième procédé permet d'obtenir un meilleur DD, mais entraîne une plus grande dépolymérisation.

Résultats et discussion

Détermination du degré de désacétylation (DD)

- Dosage pH-métrique

Le chitosane, utilisé pour cette partie, est d'origine commerciale.

Le dosage pH-métrique avec une solution titrée d'hydroxyde de sodium à 0,05mol.L^{-1} nous donne la courbe suivante

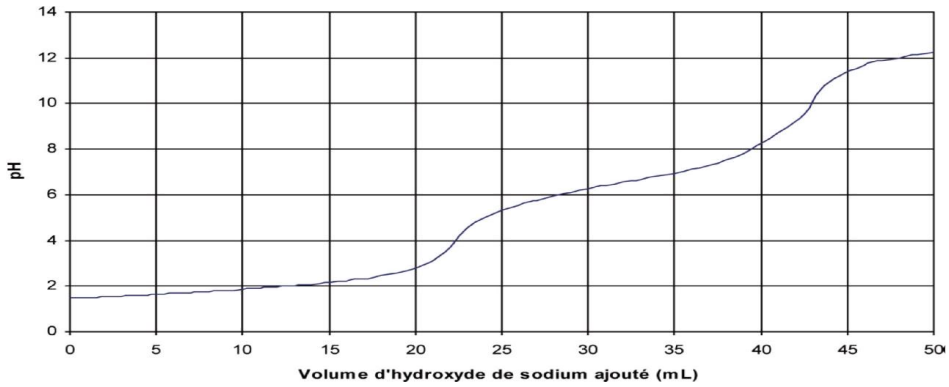


Figure 8: Dosage pH-métrique du chitosane

Le premier saut de pH correspond à la neutralisation de l'acide chlorhydrique en excès, le deuxième à la déprotonation de l'amine.

- Méthode spectrométrique

La spectroscopie infrarouge permet de déterminer le DD en utilisant des bandes caractéristiques. Une étude infrarouge quantitative est proposée.

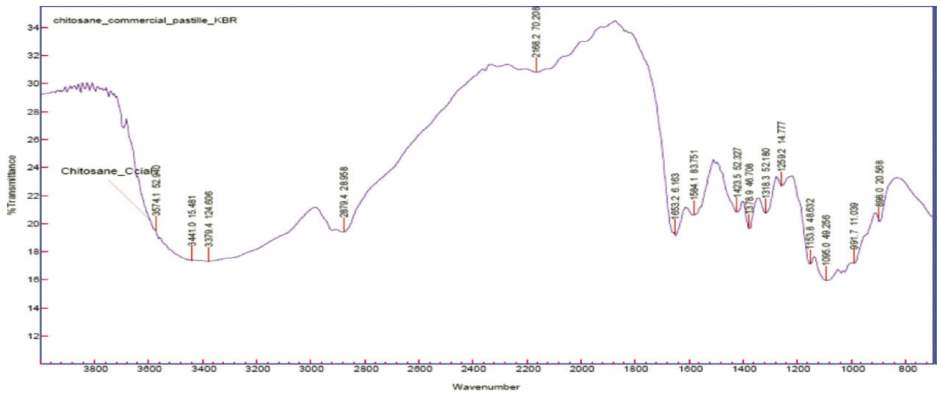


Figure 9: Spectre FTIR du chitosane

Le degré de désacétylation est donné par la formule suivante :

$$\mathbf{DD(\%)=97,67-26,486\ (A_{1655}/A_{3450})\ (I.2)}$$

Le calcul donne un DD de 87%. On observe que les résultats obtenus par les méthodes pH-métrique et spectroscopique diffèrent. De ce fait, pour comparer le DD de divers chitosanes il est préférable de ne travailler qu'avec une seule méthode. Il existe d'autres techniques analytiques permettant de déterminer le degré de

désacétylation comme l'analyse élémentaire ou la Résonance magnétique nucléaire (RMN).

❖ Elias ASSAAD a décrit dans ces recherches, les méthodes expérimentales d'obtention du chitosane et de modification de la bentonite ainsi que les essais d'élimination des cations métalliques et de la turbidité. Ces essais ont tous été effectués dans l'eau distillée et à température ambiante (20-25°C) et les essais d'adsorption et de coagulation-floculation ont été effectués sur des échantillons de 50 ml de volume.

- Obtention du chitosane

Deux étapes ont été nécessaires pour obtenir le chitosane, soient l'obtention de la chitine à partir des carapaces des crevettes et ensuite l'obtention du chitosane à partir de la chitine.

Obtention de la chitine: lavage, séchage et broyage des carapaces; traitement de 100g des carapaces avec 1 L de l'hydroxyde de sodium (10%) dans un bain-marie pendant environ 4h ; lavage, filtration des résidus et attaque avec 1L de l'acide chlorhydrique 2N pendant 5h; filtration et lavage de la chitine avec de l'eau, de l'éthanol et de l'éther; séchage de la chitine dans le four à 40°C.

Obtention du chitosane : traitement de la chitine avec de l'hydroxyde de sodium (50%) dans un bain-marie pendant environ 3h ; filtration et lavage du chitosane jusqu'à pH neutre; lyophilisation du chitosane.

- Caractérisation du chitosane

Le chitosane obtenu a été caractérisé par les méthodes suivantes: spectroscopie UV-visible; spectroscopie FTIR ; dosage conductimétrique ; dosage pH-métrique

— Caractérisation par UV-visible

Une solution de chitosane de 1% a été préparée dans une solution d'acide acétique de 2%. Ensuite, un échantillon de cette solution a été balayé par un spectre UV-visible de 200-800 nm par le spectrophotomètre UV-visible. Le trajet optique de la cellule utilisée est de 1 cm.

— Caractérisation par FTIR

Les spectres infrarouges ont été obtenus en effectuant 32 balayages de l'échantillon du chitosane ou de la chitine dans des pastilles de KBr (1 mg

chitosane (chitine)/l00 mg KBr). L'échantillon a été porté à 40°C pour une durée de 24h avant de prendre le spectre par le spectrophotomètre infrarouge à transformée Fourrier.

— Caractérisation par dosage conductimétrique

Le dosage conductimétrique a été effectué dans le but de déterminer le DDA du chitosane. Il a été effectué suivant deux méthodes.

Dosage basique qui comporte les étapes suivantes:

Solubilisation de 150mg de chitosane dans 10ml de HCI 0,1N ; après solubilisation, ajustement du volume de la solution à 200 ml avec de l'eau distillée; titrage de la solution de chitosane, tout en l'agitant, avec une solution de NaOH de 0,1N ; mesure de la conductivité de la solution après chaque ajout de NaOH.

Dosage acide qui comporte les étapes suivantes :

Disperser 150 mg de chitosane dans 200 ml d'eau distillée; titrer le mélange, tout en l'agitant, avec une solution de HCl 0,1 1\1 jusqu'au dépasser le point de solubilisation complète du chitosane; mesurer la conductivité de la solution après chaque ajout de HCI.

— Caractérisation par dosage pH-métrique

Le dosage pH-métrique a permis de déterminer le pKa et le DDA du chitosane. Il se déroule selon les étapes suivantes: Solubilisation de 135 mg de chitosane dans 10 ml de HCI 0,1 N ; ajustement le volume de la solution à 200 ml avec de l'eau distillée; titrage de la solution, en l'agitant, avec une solution de NaOH 0,05 N ; mesurer du pH de la solution après chaque ajout de NaOH

Ajout de la masse nécessaire de chitosane à 50 ml de solution de cations métalliques; agitation faible et périodique jusqu'à atteinte de l'équilibre (24h) ; centrifugation et séparation de la solution claire (surnageant) ; mesure du pH ; mesure de la concentration des cations métalliques dans la solution claire par absorption atomique.

- Elimination de la turbidité

Le chitosane a été préparé immédiatement avant les essais de la coagulation-floculation qui comportent les étapes suivantes: ajout de la suspension de

l'échantillon Mt(K) à l'eau distillée. Le volume total du mélange obtenu dans le bécher est de 50 ml ; agitation faible et périodique de la solution, pendant 24 h ; ajout de la quantité nécessaire de chitosane et ajustement du pH agitation forte (100 tpm) durant 5 min, après ajout du chitosane (coagulation); agitation lente (30 tpm) de la solution pendant 10 min (floculation) ; décantation de la solution pour une durée de 10 min; mesure de la turbidité résiduelle; centrifugation et séparation de la solution claire (surnageant); mesure du pH.

Résultats et interprétations

- Caractérisation du chitosane
    - — Caractérisation du chitosane par spectroscopie UV-Visible

Le spectre UV-visible montre une bande caractéristique de chitosane à une longueur d'onde de 285-290 nm.

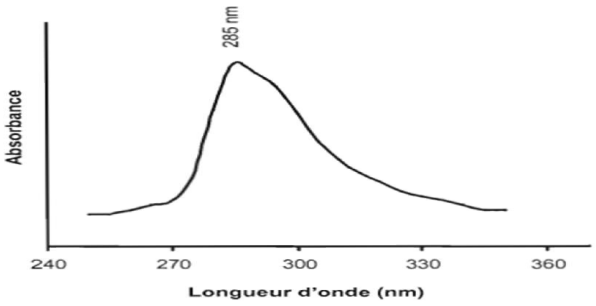


Figure 10: Spectre UV du chitosane, concentration de 1% ; solvant d'acide acétique (2%) ; cellule de 1 cm

- — Caractérisation de la chitine et du chitosane par spectroscopie infrarouge

Les spectres obtenus par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourrier pour la chitine et pour le chitosane, et les bandes principales de ces spectres sont montrés à la figure 11. Les deux spectres montrent une large bande à 3100-3500 cm^{-1} correspondant aux vibrations d'élongation de -NH et -OH incluant les liaisons d'hydrogène. L'absorbance de cette bande dans le spectre du chitosane diminue en intensité et se déplace vers une fréquence plus élevée. Ceci est un signe de diminution des liaisons d'hydrogène en raison de l'état amorphe du chitosane. L'absorbance des pics à 3105 et 3246 cm^{-1} diminue avec l'augmentation du degré de désacétylation. Cette diminution reflète une réduction des liaisons d'hydrogène

intermoléculaires C(2) NH...O=C(7) et C(6)OH...HOC(6). Ces résultats indiquent que les arrangements antiparallèles des chaînes de chitine se transforment en arrangements parallèles avec l'augmentation du degré de désacétylation (Cho et al., 2000).

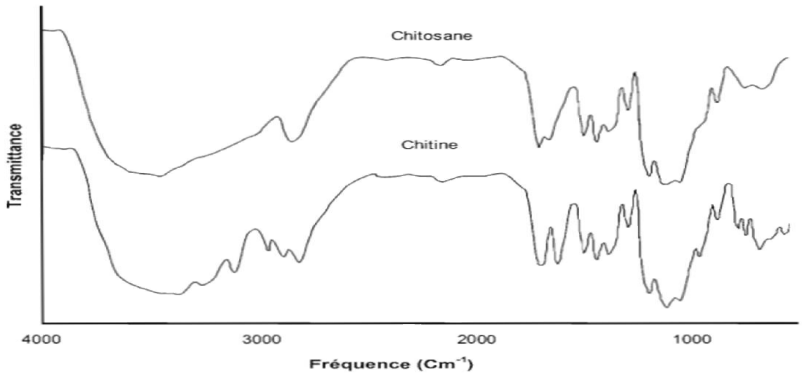


Figure 11: Spectres FTIR de la chitine et du chitosane (1 mg chitosane (chitine)/100 mg KBr).

— Détermination du degré de désacétylation du chitosane par dosage conductimétrique

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

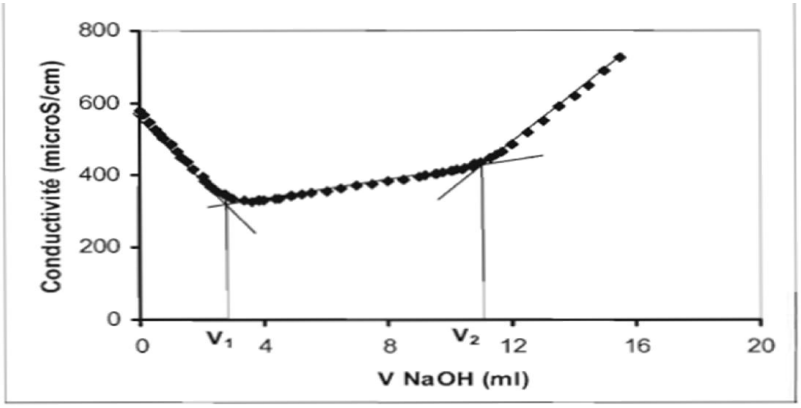


Figure 12: Dosage conductimétrique basique du chitosane, m (chitosane)=0,15g; C (HCl) =0,1 N ; C (NaOH) =0,1 N.

Dans la deuxième méthode, le chitosane lyophilisé a été dispersé dans de l'eau distillée sous forme de particules très fines.

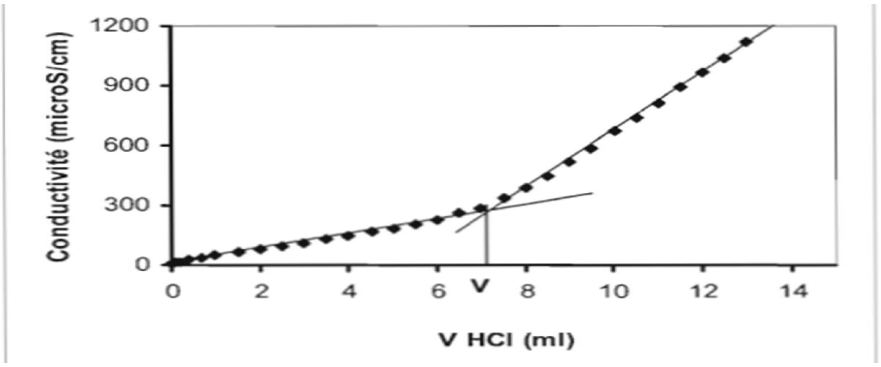


Figure 13:Dosage conductimétrique acide du chitosane, m (chitosane) = 0,15g ; C(HCI) =0,1N

Détermination du degré de désacétylation et du pKa du chitosane par dosage pH-métrique Une solution contenant le chitosane solubilisé dans l'acide chlorhydrique est neutralisée par de l'hydroxyde de sodium.

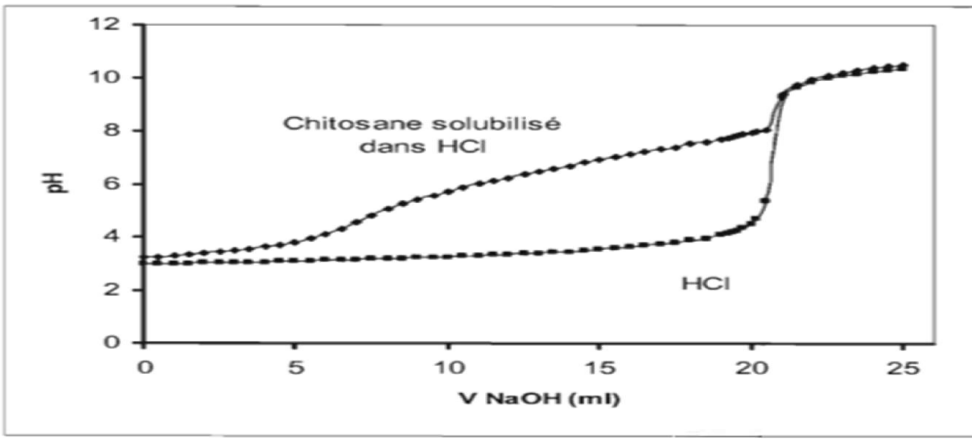


Figure 14: Dosage pH-métrique du chitosane, m (chitosane) = 0,135 g ; C (NaOH) = 0,05 N ; C (HCI) = 0,1 N.

La moyenne des trois valeurs de DDA obtenues par les trois méthodes dedosage est de 86,3%. Un tel DDA donne au chitosane la capacité de fixer des cations métalliques. Si le DDA est très élevé, les effets des interactions intramoléculaire et intermoléculaire deviennent considérables. Une faible valeur du DDA correspond à une chitine ayant un grand degré de cristallisation et peu de fonctions NH_2, ce qui a pour résultat une faible capacité de fixer des cations métalliques.

❖ Selon ARBIA Leila, les matériels utilisés pour la déminéralisation et la déprotéinisation de la carapace de crevette par voie fermentaire, sont la souche

bactérienne, et les carapaces (y compris têtes et thorax) des crevettes *Parapenaeus longirostris*.

- Préparation de la poudre de carapace

La poudre de carapace des crevettes est préparée suivant le procédé cité par Mukherjee, 2001: Débarrasser la carapace de la chaire, des antennes et des pattes ; Faire bouillir la carapace dans de l'eau pendant 1h pour enlever le maximum de tissus ; Séchage dans l'étuve; Laisser refroidir ; Débarrasser d'éventuels tissus encore présents, par frottement ; Faire subir les carapaces un choc thermique qui permet de casser la structure cristalline qui caractérise la carapace et de les rendre plus faciles à broyer ; Mettre les carapaces ainsi chaudes dans un récipient puis l'ensemble est rapidement plongé dans un bain d'acétone contenant de la glace ; Broyer les carapaces à l'aide d'un broyeur pour obtenir une poudre de granulométrie variable de 1 à 3mm (choisi arbitrairement dans notre travail).

- Méthodes analytiques

Détermination du pH de la carapace à 10% (masse/volume) : mesure directe

- Mesure de l'humidité de la carapace: la méthode consiste en un étuvage à 105°C pendant 24h. La perte de masse est équivalente à la quantité d'eau présente dans la carapace.
- Détermination du taux de cendres dans la carapace: le principe repose sur l'incinération de1g de poudre de carapace à 900°C pendant 2,5h dans un four à moufle (AFNOR, 1988) (NF V03-922, 1967).
- Analyses spectroscopiques infrarouge : la spectroscopie infrarouge à transformation de Fourier (FTIR) permet d'identifier la présence de groupements chimiques spécifiques. Les liaisons entre atomes vibrent selon une fréquence spécifique qui dépend de la masse des atomes engagés et de la rigidité relative de la liaison.
- Détermination de la teneur en chitine : la teneur en chitine dans les carapaces est déduite par le dosage des résidus N-acétyl glucosamines libérés par hydrolyse acide de la chitine réalisée avec de l'acide chlorhydrique 4N pendant 18h à 105°C.
- Dosage du carbonate de calcium ($CaCO_3$) (AFNOR, 1987) : le principe repose sur la détermination volumétrique du dioxyde de carbone (CO_2)

dégagé sous l'action d'un acide fort à température ambiante par l'échantillon préparé pour l'essai.

- Dosage des protéines par la méthode de Biuret (Apria, 1981) :

Résultats et discussions

- Caractérisation physicochimique de la carapace brute de crevettes

Le tableau suivant montre les propriétés physicochimiques de la carapace de crevette *Parapenaeus longirostris*.

Tableau 4: Propriétés physicochimiques de la carapace Parapentes oncirostres

pH	8-9
Humidité	3,35%
Cendres ($CaCO_3$)	27% (13%)
Protéines (libres et liées)	12%
Chitine	23%
Lipides et pigments	34,74%

Le tableau 4 montre que la carapace de Parapenaeus longirostris possède un pH basique qui varie entre 8 et 9, un taux de cendres de 27% dont la moitié presque (13%) est formée par le carbonate de calcium, probablement, responsable de cette alcalinité. La carapace de crevettes renferme un taux protéique de l'ordre de 12%.

- Analyses physico-chimiques et spectroscopiques de la carapace de crevettes et de la chitine.

Ces différentes analyses effectuées aussi bien sur la carapace brute (n'ayant pas subi de traitement biologique) que sur les carapaces fermentées ont permis d'apporter, grâce à des comparaisons, des explications sur l'efficacité du traitement biologique. Les analyses spectroscopiques par IR à transformée de Fourier ont été effectuées sur quatre échantillons : chitine commerciale préparée par voie chimique, carapace brute. Des comparaisons ont été faites par identification des pics caractéristiques des sels minéraux et d'autres liaisons chimiques.

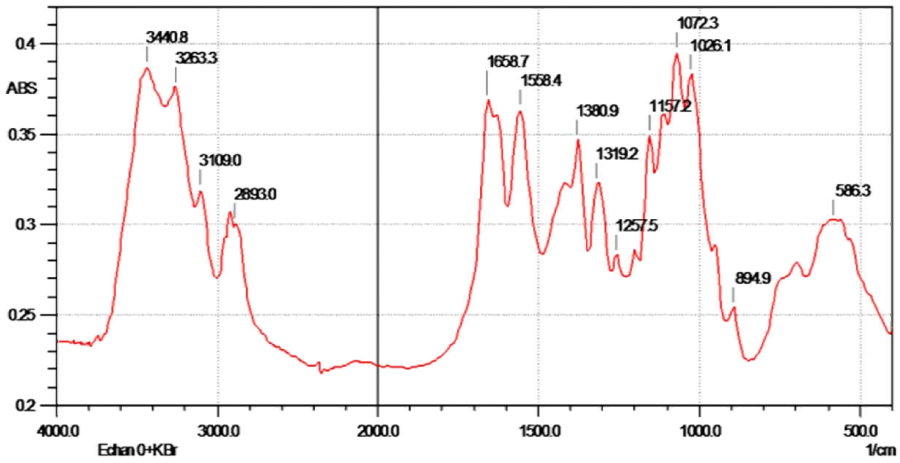


Figure 15: Spectre FTIR de la chitine pure (préparée par voie chimique) (Sigma)

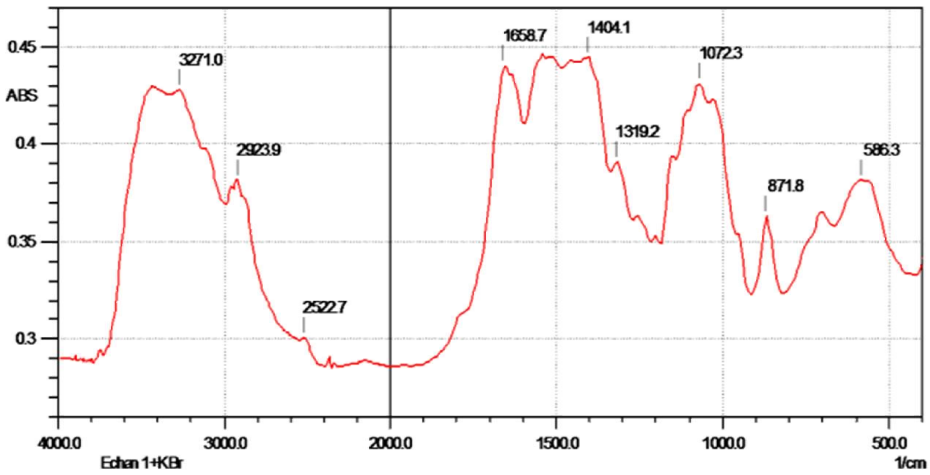


Figure 16: Spectre FTIR de la carapace brute

Le spectre de la carapace brute (Fig 33) montre la présence de la calcite avec des pics d'absorption situés à 871,8 cm^{-1} et 1404,1 cm^{-1}. Ce qui justifie la présence des sels minéraux principalement $CaCO_3$. En comparant avec le spectre de la chitine pure (Fig. 32), nous remarquons l'absence de ces pics et la présence d'autres pics intenses d'absorption situés à 1157,2 cm^{-1}; 1380,9 cm^{-1}; 1558,4 cm^{-1}; 2893 cm^{-1}; 3109 cm^{-1}et à 3263,3 cm^{-1}. Ces pics sont caractéristiques de la chitine de type α.

PARTIE II: MATERIELS ET METHODES

II.1. Matériels

Les matériels et réactifs utilisés lors de chaque étape de cette étude sont résumés dans le tableau 5 suivant:

Tableau 5 : Matériels et réactifs utilisés

Etapes d'études	Petits matériels	Réactifs	Appareillage
Préparation de la matière première	• Broyeur • Tamis		Etuve MEMMERT
Extraction de la chitine et obtention du chitosane	• Verreries de laboratoire : fioles jaugées, béchers, entonnoirs, éprouvettes, burette, pipettes, flacons, réfrigérant à air, tubes à essais, etc. • Papier filtre • Spatules • Agitateur magnétique	• HCl dilué • NaOH concentrée et diluée • CH_3COOH 2% • H_2O_2 • Acétone • 1-Octanol	• Thermomètre • Plaque chauffante électrique Stuart CB 162 • Balance de précision METTLER AE 200
Analyses physico-chimiques des poudres de la matière première et de la chitine	• Papier Joseph • Para films • Capsules • Spatules • Dessiccateur • Bain de sable	• HCl concentrée • n-Hexane	• Spectrophotomètre d'absorption atomique à flamme VARIAN • Four à incinération Thermosci • Etuve MEMMERT • Rotavap Labo-Rota S-300 resona technics • Extracteur Soxhlet

			• Distillateur Kjeldhal BUCHI
Caractérisation du chitosane	Papier Joseph	• CH_3COOH 2% • KBr	• Spectrophotomètre UV-VIS BECKMAN • Spectrophotomètre FTIR-8400S SHIMADZU • Conductimètre EUTECH Cyber scan con11 • pH-mètre EUTECH Escosan
Evaluation de l'éfficacité du traitement avec le chitosane	• Agitateur magnétique • Papier Joseph • Equipements des matières en suspension par filtration sous-vide • Filtres en papier Whatman GF/ C 47 mm • Flacons d'incubations à bouchons rodés • Enceinte réglable à 20°C	• H_2SO_4 concentrée et diluée 0,1N • Solution d'acide borique 40g/L • Sulfate de cuivre • Sulfate de potassium • Rouge de méthyle • Bleu de méthylène • Acide sulfurique-sulfate d'argent • Sulfate de fer II et d'ammonium 0,12 mol/L • Sulfate de mercure II ($HgSO_4$) en cristaux • Dichromate de	• Turbidimètre HANNA HI 9373 • Spectromètre wagtech 7000 • Plaque chauffante électrique Stuart CB 162 • pH-mètre EUTECH Escosan

	• Matériels nécessaires pour le dosage de l'oxygène • Appareil à reflux constitué d'une fiole d'un tube ou d'un ballon à fond plat, à col rodé • Manchon chauffant • Burette de précision	potassium ($K_2Cr_2O_7$) 0,040 mol/L • Hydrogénophtalate de potassium $C_8H_5O_4$ 2,0824 mol/L • Ferroine, solution d'indicateur • Granules régulateurs d'ébullition	

II.2. Méthodes

Les objectifs de cette étude sont:

- Obtenir de la chitine à partir des déchets de crabes par voie chimique
- Obtenir du chitosane à partir de la chitine par désacétylation chimique
- Caractériser le chitosane obtenu
- Procéder à un éssai de coagulation-floculation des rejets d'imprimerie avec le chitosane

II.2.1. Analyses physico-chimiques des matières premières

Les matières premières utilisées lors de cette étude sont des carapaces, pinces et pattes de crabes de Mangrove (Scylla seratta). Les crabes sont fournis par la société Manda S.A, Ivato, Antananarivo, Madagascar et ils proviennent des côtes de Mahajanga (partie Ouest de Madagascar). Les crabes sont reçues congelés et laissées dans le congélateur jusqu'à son décorticage.

II.2.1.1. Préparation des matières premières à analyser

Les crabes sont décortiqués, débarrasser la carapace de la chair, des pinces et des pattes. Ces derniers sont ensuite lavés avec de l'eau de robinet, puis avec de l'eau distillée, et séchés dans une étuve à température égale à 105°C pendant une nuit. Sortie de l'étuve, on les laisse se refroidir. Ils sont broyés à l'aide d'un broyeur pour obtenir des poudres et tamisés ensuite à l'aide d'un tamis.

Photo 1: Décorticage du crabe

a b c

Photo 2: Carapaces (a), pattes (b) et pinces (c) de crabes prêt à sécher

a b

Photo 3: Séchage des carapaces, pinces et pattes de crabes ; avant séchage (a), après séchage (b)

a b c

Photo 4: Broyeur (a), broyage des déchets de crabes séches (b), poudre obtenue prêt à employer (c)

II.2.1.2. Mesure du pH

Principe

Le principe consiste à mesurer le pH de la solution en introduisant le sonde du pH-mètre dans le bécher et en notant la valeur qui s'affiche sur l'écran.

Mode opératoire(Arbia, 2010)

Macérer 2g de poudre dans 20 ml d'eau distillée, dans un bécher, pendant une heure. La sonde du pH-mètre ensuite introduit dans le bécher contenant l'échantillon à analyser. La valeur du pH s'affiche sur l'écran du pH-mètre.

II.2.1.3. Détermination de la teneur en eau

Principe(Arbia, 2010)

La teneur en eau est déterminée par étuvage des échantillons à une température égale à 105°C pendant 24 heures.

Mode opératoire

Prélever et peser 1g d'échantillons dans une capsule. Placer la capsule dans une étuve à 103°C pendant 24 heures. Elles sont refroidies dans un dessiccateur avant d'être repesées de nouveau. Le dosage est effectué 2 fois pour chaque échantillon.

Mode de calcul

La teneur en eau se calcule de la manière suivante:

$$\boldsymbol{TE}\ (\%)\ = \frac{\boldsymbol{M_2 - M_1}}{\boldsymbol{PE}} * \mathbf{100}\ (\boldsymbol{II.1})$$

Soit:

TE (%): teneur en eau en pourcent

M_0 la masse de la capsule vide en grammes

M_1 la masse de la capsule après étuvage en grammes

PE le prise d'essai

II.2.1.4. Détermination de la teneur en cendres brutes

Principe(Duval, 2008)

Les cendres brutes sont obtenues par la dégradation des matières organiques contenues dans les échantillons à 550°C. Le principe repose sur l'incinération de

l'échantillon dans un four à moufle électronique à 550°C jusqu'à obtention des cendres blanches ou grises.

Photo 5: Four à moufle électronique HERAEUS

Mode opératoire

Peser environ 1g de l'échantillon dans une capsule en porcelaine préalablement taré: M_1. Puis placer la capsule dans le four à température réglée à 550°C jusqu'à obtention des cendres blanches ou grises. Le lendemain, sortir les capsules et les mettre dans un dessiccateur pour les refroidir. Peser M_2.

Mode de calcul

La teneur en cendres se calcule comme suit:

$$\boldsymbol{Cendres}\ (\%) = \frac{\boldsymbol{P_2 - P_1}}{\boldsymbol{PE}} * \boldsymbol{100}(\boldsymbol{II.2})$$

Où

P_2: le poids de la capsule après incinération en grammes

P_1: le poids de la capsule vide en grammes

PE: la prise d'essai en grammes

II.2.1.5. Détermination de la teneur en protéines

Il existe plusieurs méthodes pour déterminer la teneur en protéines dans un échantillon, à savoir : le dosage de l'azote par Kjeldahl, la méthode de Biuret, la méthode de dosage colorimétrique des protéines. Dans ce travail, la méthode utilisée est la méthode de dosage de l'azote par Kjeldahl (Rakotoarisoa, 2014).

Principe

Le principe repose sur la destruction des composés organiques dans l'échantillon, de manière à obtenir tout l'azote sous une forme minérale; en effectuant une minéralisation à l'aide d'un excès d'acide sulfurique concentrée H_2SO_4 en présence de mélange de catalyseur (composé de sulfate de cuivre et sulfate de potassium). Le minéralisât obtenu est distillé avec la méthode Kjeldahl. Le principe du dosage de l'azote par Kjeldahl consiste à faire un dosage en retour.

Mode opératoire

La méthode de dosage des protéines par Kjeldahl se déroule en trois (03) étapes: la minéralisation, la distillation et la titration. Ces trois étapes sont obligatoires.

- **1ère étape: Minéralisation**

Minéralisation veut dire dégradation des matières organiques et mise en évidence des matières minérales, c'est-à-dire les composés de l'échantillon sont transformés en matières minérales.

Processus de minéralisation:

Peser environ 0,25g de l'échantillon dans un papier Joseph. Plonger ensuite l'échantillon pesé dans le matrat de minéralisation (avec le papier Joseph). Verser 15ml de l'acide sulfurique H_2SO_4 concentré et ajouter deux (02) pièces de catalyseur composé de sulfate de cuivre et sulfate de potassium. Lancer ensuite la minéralisation.

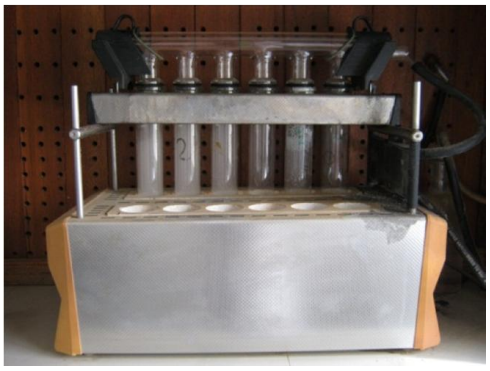


Photo 6: Minéralisateur à 12 postes BUCHI Digestion Unit K-435

La minéralisation est terminée quand la couleur de l'échantillon vire de marron-noir à la couleur vert-clair.

- **2ème étape: Distillation**

Le minéralisât obtenu est distillé par la méthode Kjeldhal

Processus de distillation:

Prendre dans un bécher de 600ml, 25ml d'acide borique de concentration égale à 40g/L (peser 40g d'acide borique en pastille ou en poudre et diluer dans un litre d'eau distillée). Le minéralisât est placé dans l'appareil Kjeldahl et on ajoute par l'intermédiaire de l'appareil, environ 50ml de soude concentré. Le minéralisât placé dans le distillateur change de couleur après ajout de soude (la couleur du distillat est marron-noir). L'acide borique dans le bécher est placé dans la colonne droite de l'appareil et on ajoute quelques gouttes d'indicateur coloré (rouge de méthyle + bleu de méthylène) jusqu'au virage rouge-clair ou rose-clair. Puis lancer la distillation.

La distillation est terminée quand la couleur de l'acide borique rouge-clair vire à la couleur verte.

Photo 7: Distillateur Kjeldahl BUCHI

- **3ème étape: Titration**

Le distillat obtenu est titré par l'acide sulfurique de concentration 0,1N jusqu'au virage à la couleur rouge-clair.

Mode de calcul

La teneur en protéines est calculée selon la formule suivante:

$$\boldsymbol{Prot\acute{e}ines}\ (\%)\ = \frac{\mathbf{0,875}\ * \boldsymbol{Chute\ de\ burette}}{\boldsymbol{Prise\ d'essai}}\ * \mathbf{100}\ (\boldsymbol{II.3})$$

Où

0,875: constante obtenue après multiplication avec le facteur de conversion de l'azote en protéines.

Chute de burette: volume de l'acide sulfurique versé en millilitre

Prise d'essai: poids de l'échantillon prise en grammes

II.2.1.6. Dosage des éléments minéraux: Ca, Mg, K, Na par spéctrophotométrie d'absorption atomique

Principe

Le principe de la méthode d'analyse se base sur le principe de la spectrophotométrie d'absorption atomique à flamme, dont la propriété est que les atomes absorbent une quantité bien définie d'énergie ou photon de fréquence bien définie pour passer d'un état fondamental à un état excité. Plus il y a d'atomes ou éléments minéraux dans la solution, plus il y a d'énergie sous forme de rayonnement et cette énergie est transformée en densité optique proportionnelle à la concentration des éléments minéraux (Dubois, 1999).

Mode opératoire

Les cendres brutes obtenus par calcination à 550°C permettent le dosage des éléments minéraux. Les cendres sont mouillées avec un peu d'eau distillée, puis additionnées de 5ml d'HCl concentré. Le mélange ainsi obtenu est transvasé dans un bécher et chauffé jusqu'à ébullition pendant 15mn sur un bain de sable. Laisser se refroidir, filtrer et rincer avec de l'eau distillée. Ramener à 100ml avec de l'eau distillée, le volume de la solution, avant la lecture de la densité optique sur le spectromètre d'absorption atomique. Une courbe d'étalonnage de la densité optique en fonction de la concentration est établie pour chaque élément et la concentration en

élément l'échantillon est alors déduite en reportant leurs densités optiques dans la courbe d'étalonnage respective.

Photo 8: Un spectromètre d'absorption atomique à flamme VARIAN

Mode de calcul

Le calcul de teneur en éléments minéraux est donné comme suit:

$$\boldsymbol{Eléments\ minéraux}\left(\boldsymbol{g}/\boldsymbol{100g}\right) = \frac{\boldsymbol{x} * \boldsymbol{10^{-6}} * \boldsymbol{dil} * \boldsymbol{V} * \boldsymbol{100}}{\boldsymbol{PE}} (\boldsymbol{II.4})$$

Où x: concentration de la solution en microgrammes par litres

dil: inverse du facteur de dilution

V: volume de reprise des matières minérales en litres

PE: prise d'essai initial en grammes

II.2.1.7. Détermination de la teneur en lipides

Principe(Razafindrakoto, 2015)

Le principe repose sur l'extraction des lipides contenus dans les échantillons en utilisant un solvant d'extraction : le n-hexane ou l'éther de pétrole.

Mode opératoire

Environ 5g de l'échantillon est pesé dans un papier Joseph. L'échantillon pesé contenu dans le papier Joseph est mis dans une cartouche à extraction. La cartouche est placée ensuite dans un extracteur Soxhlet. Un ballon contenant environ 120ml d'hexane est placé directement au-dessous de l'extracteur. Le ballon est monté au

chauffe-ballon. L'extrait d'hexane est recueilli dans un ballon préalablement pesé. Le contenu du ballon est évaporé à l'aide d'un rotavap, puis séché à l'étuve à 103°C et refroidi dans un dessiccateur. Après refroidissement, le ballon est de nouveau pesé.

Photo 9: Montage de l'appareil Soxhlet

Mode de calcul

La détermination de la teneur en lipides se fait comme suit:

$$\boldsymbol{Lipides}\ (\%) = \frac{\boldsymbol{M_2 - M_1}}{\boldsymbol{PE}} * \mathbf{100}\ (\boldsymbol{II.5})$$

Avec

M_1: la masse du ballon vide en grammes

M_2: la masse du ballon après l'étuvage en grammes

PE: la prise d'essai en grammes

II.2.2. Extraction de la chitine par voie chimique

Des différentes étapes sont à suivre lors de l'extraction de la chitine par voie chimique. Voici le processus de fabrication de la chitine: après la préparation de la matière première, vient l'étape de déminéralisation (Randrianasolo, 2003 et Le Roux, 2012).

II.2.2.1. Déminéralisation

Principe

L'opération de déminéralisation consiste à éliminer les matières minérales les plus abondantes dans les matières premières. Ces éléments minéraux se dissocient sous l'action de la chaleur à l'aide d'une plaque chauffante en procédant la déminéralisation par chauffage à réfrigérant à air.

Mode opératoire

Peser 50g (ou 25g) de l'échantillon et mettre dans un ballon de 1000ml (ou 500ml). Verser ensuite 500ml (ou 250ml) d'acide chlorhydrique 3N et quelques gouttes d'octan-1-ol qui joue le rôle d'anti-mousse. Mettre dans le ballon un agitateur magnétique pour mélanger le contenu du ballon et pour homogénéiser la température et l'énergie. Placer le ballon avec un réfrigérant à air au-dessus, sur la plaque chauffante à température égale à 80°C et activer l'agitation. Laisser pendant 3heures de temps.

Photo 10: Déminéralisation des coproduits de crabes

II.2.2.2. Filtration-lavage

Après l'opération de déminéralisation, le produit obtenu subit une filtration pour se détacher de la solution aqueuse d'acide chlorhydrique résiduelle à l'aide d'un papier filtre. Rincer ensuite, avec de l'eau distillée jusqu'à obtention de pH neutre voisin de 6 ou 7, pour faire disparaître toutes traces acides.

II.2.2.3. Déprotéinisation

Principe

L'étape de déprotéinisation consiste à provoquer la dégradation des protéines à l'aide d'une solution de soude diluée sous l'effet de la chaleur.

Mode opératoire

Introduire le retentât filtré ci-dessus dans un ballon de 1000ml (ou 500ml) et verser 500ml (ou 250ml) de soude 2N. Mettre dans un bain marie pendant 2heures et 30minutes à température égale à 95°C.

Photo 11: Déprotéinisation du produit déminéralisé

II.2.2.4. Filtration-lavage

Le produit obtenu après déprotéinisation, qui est la chitine brute, subit une filtration. La chitine se détache de la solution alcaline de soude à l'aide d'un papier filtre. La phase solide est ensuite rincée avec de l'eau distillée jusqu'à obtention de pH voisin de 7 à 8 pour faire disparaître toutes traces alcalines.

Après des filtrations et lavages successives, le produit subit un test de présence ou d'absence de protéines, pour vérifier si les protéines sont totalement éliminer ou pas, après l'étape de déprotéinisation. Pour ce faire, la méthode de Biuret est utilisée.

Dans un bécher de 50ml, ajouter dans 3ml de la solution aqueuse de la chitine, 1ml de soude 20%. Puis, ajouter goutte à goutte du sulfate de cuivre 1%. Le test est

positif (+), c'est-à-dire, il y a présence de protéines, s'il apparaît une coloration violette plus ou moins sombre.

II.2.2.5. Blanchiment ou dépigmentation

La chitine obtenue après traitements acide et alcalin peut être décolorée. C'est une étape facultative (Le Roux, 2012).

Principe

Cette étape consiste à éliminer les traces de pigments résiduels dans la chitine, tout en utilisant, de réactif qui n'ait pas un effet sur les propriétés physico-chimiques de la chitine.

Mode opératoire

Ajouter 80ml de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 5% dans la chitine, pour la blanchir. Après filtration et lavage à l'eau distillée, ajouter 1ml d'acétone pour entrainer les impuretés lipidiques résiduelles. Filtrer le produit après rinçage à l'eau distillée.

II.2.2.6. Séchage et broyage de la chitine

La chitine provenant de la déprotéinisation et des filtrations et lavages successives, est séchée dans une étuve à température égale à 90°C pendant une nuit. La chitine obtenue après séchage est, soit sous forme de paillette ou de poudre. La chitine est ensuite broyée dans un mini-broyeur conduisant à une granulométrie inférieure à 1mm. La chitine ainsi obtenu après broyage se présente sous forme de poudre blanche, qui est insoluble dans l'eau, dans l'acide et dans des solvants organiques solubles.

II.2.3.Obtention du chitosane

Le chitosane est obtenu par traitement alcalin de la chitine. 3 étapes sont à suivre pour obtenir le chitosane.

II.2.3.1. Désacétylation

Principe

Cette étape consiste à substituer les groupements acétyles dans la chitine pour aboutir au chitosane. En effet, la réduction de la longueur de la chaîne du polymère (chitine), se fait en présence de soude forte et concentrée à haute température.

Mode opératoire

Peser environ 3 g de la chitine et mettre dans un ballon de 250ml, verser 45ml de soude 40%. Le ballon avec le réfrigérant à air, est placé dans un bain marie, pendant 3heures, à température égale à 95°C.

Photo 12: Désacétylation de la chitine

II.2.3.2. Filtration-lavage

Après l'étape de désacétylation, le produit obtenu subit des filtrations et lavages successives avec de l'eau distillée, jusqu'à obtention de pH proche 7 à 8, pour faire disparaître toutes traces alcalines.

II.2.3.3. Séchage et purification du chitosane

Le chitosane obtenu est séché dans l'étuve à température égale à 90°C pendant une nuit. Puis broyé, pour avoir une poudre fine. Le chitosane ainsi séché est purifiée suivant la méthode suivante : 1% de chitosane est preparé dans de l'acide acétique 2%, agiter pendant une heure et laisser décanter jusqu'à formation de précipité. Les impuretés se présentent sous forme de précipité tandis que le chitosane pure est soluble dans l'acide acétique, qui est récupéré dans un autre bécher. Augmenter

ensuite le pH de la solution à l'aide d'une solution de soude 0,1N jusqu'à obtention de pH égale à 8, pour récupérer le chitosane pur soluble dans l'acide acétique. La solution est ensuite lavée avec de l'eau distillée jusqu'à pH neutre et filtrée. Sécher dans l'étuve à température égale à 90°C pendant 3heures. Broyer et conserver la poudre de chitosane pur à température ambiante.

La figure 17 ci-dessous résume la méthode d'extraction de la chitine et obtention du chitosane par voie chimique.

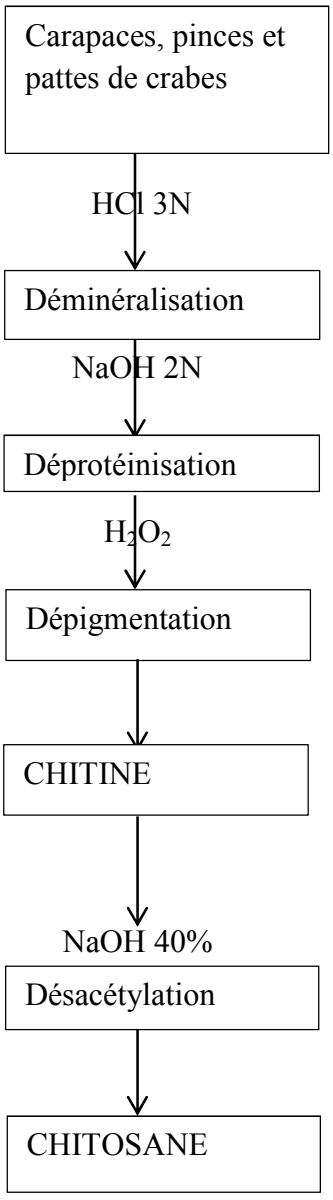


Figure 17: Extraction de la chitine et obtention du chitosane par voie chimique

II.2.4. Analyses physico-chimiques de la chitine

La méthode utilisée est la même que celle décrite au II.2.1.

Les principes, les modes opératoires et les modes de calcul de la mesure du pH, la détermination de la teneur en eau, la détermination de la teneur en cendres brutes, le dosage des éléments minéraux et la détermination de la teneur en protéines sont les mêmes que celles décrites aux analyses biochimiques de la matière première.

II.2.5. Caractérisation du chitosane

Le degré de désacetylation ou DDA est la plus importante caractéristique du chitosane. Pour déterminer le DDA du chitosane, il existe quatre méthodes d'analyses, à savoir : le balayage par spectromètre UV-VIS, le dosage par FTIR, le dosage conductimétrique et le dosage pH-métrique. Une seule méthode n'est pas suffisante.

II.2.5.1. Balayage par spectromètre UV-VIS

Principe

La spectrophotométrie UV –Vis est les plus souvent utilisée en analyse quantitative. Le domaine UV-Vis s'étend environ de 100 à 800 nm.Le principe repose sur le principe de Beer-Lambert. Une méthode d'analyse quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance d'une substance chimique donnée généralement en solution. Plus l'échantillon est concentré, plus il absorbe la lumière. La loi de Beer-Lambert s'énonce comme suit : l'intensité d'un rayonnement électromagnétique de longueur d'onde traversant un milieu transparent, subit une diminution exponentielle en fonction de distance parcourue et de la densité de l'espèce absorbant dans ce milieu.

Photo 13: Spectrophotomètre UV-VIS BECKMAN DU-64

Mode opératoire

Peser 0,1g de chitosane et mettre dans une fiole de 10 ml, verser ensuite 10ml d'acide acétique 2%. Agiter bien et homogénéiser le mélange. Balayer avec un spectre UV-VIS de 210 à 400 nm par le spectromètre UV-VIS. Le chitosane commercial est préparé en gamme de concentration croissante afin d'établir une courbe d'étalonnage.

II.2.5.2. Dosage par FTIR

Principe

La Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (ou FTIR Fourier Transformed InfraRed spectroscopy) est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé. C'est un moyen de diagnostic permettant de déterminer la nature du vibration des liaisons intramoléculaires présentes dans une molécule. La spectroscopie IR est un très puissant moyen de caractérisation pour identifier des groupements moléculaires et obtenir des informations microscopiques sur leur conformation et interaction. Lorsque la longueur d'onde (l'énergie) apportée par le faisceau lumineux est voisine de l'énergie de vibration de la liaison, cette dernière va absorber le rayonnement et on enregistrera une diminution de l'intensité réfléchie ou transmise. Les radiations électromagnétiques de fréquences comprises entre 4000 et 400 cm^{-1} sont absorbées par les molécules en tant qu'énergie de vibration intramoléculaire. Lorsque la longueur d'onde apportée par le faisceau de l'infrarouge est voisine de l'énergie de vibration de la molécule, cette dernière va absorber le rayonnement et on enregistrera une diminution de l'intensité transmise ou réfléchie.

Mode opératoire

Les spectres IR ont été obtenus en effectuant des balayages de l'échantillon du chitosane et/ ou de la chitine dans des pastilles de KBr. La pastille de KBr sert de blanc et celle du chitosane commerciale, de référence. La préparation des pastilles se fait comme suit:

Les échantillons à analyser à la FTIR sont préparés en pastille avec du KBr. L'échantillon en poudre fine de la chitine et/ou du chitosane est incorporé à un

support qui n'absorbe pas dans l'IR moyen, ici le bromure de potassium ou KBr. Un mélange homogéne à environ 1% de poudre fine (de chitosane et/ou de chitine) / poudre fine de KBr est préparé. Puis il est déposé dans un moule et soumis à une très forte pression dans une presse hydraulique. Il est extrait ensuite du moule sous la forme d'une pastille. La qualité de la pastille conditionne celle du spectre.

a b c

Photo 14: Une presse hydraulique SHIMADZU (a), appareil mettant en poudre fine l'échantillon (b), pastille de KBr contenant l'échantillon à étudier, extraite du moule, et prête à l'emploi (c)

Des pastilles de KBr/échantillon sont préparées pour entamer l'acquisition des spectres par l'analyse par FTIR. Après la préparation des pastilles de KBr, vient l'acquisition des spectres d'absorption FTIR.

Le porte-échantillon contenant la pastille KBr/produit est placé dans le compartiment de mesure du spectro FTIR sur le trajet du faisceau incident. Le signal est enregistré par le détecteur du spectro. Un spectre de bruit (background) de l'air est enregistré, qui sera ensuite soustrait du spectre obtenu avec la pastille contenant l'échantillon. Les spectres sont enregistrés en transmittance. La concentration de l'échantillon/KBr est ensuite diminuée enfin de pouvoir tracer la courbe d'étalonnage transmittance en fonction de la concentration.

Photo 15: Spectrophotomètre FTIR SHIMADZU 8400S

II.2.5.3. Dosage pH-métrique

Le dosage pH-métrique permet de déterminer le pKa et le DDA du chitosane (Assaad, 2006 et Mourad, 2012).

Principe

Le principe consiste à mesurer le pH d'une solution contenue dans un bécher ainsi que le volume de soude versé.

Mode opératoire

Solubiliser 135mg de chitosane dans 10ml de HCl 0,1N. Ajuster le volume de la solution à 200ml avec de l'eau distillée et agiter. Titrer ensuite la solution, en l'agitant, avec une solution de NaOH 0,05N. Après chaque ajout de NaOH, mesurer le pH de la solution.

II.2.5.4. Dosage conductimétrique (Assaad, 2006 et Mourad, 2012)

Principe

En solution aqueuse, la conduction se fait par les ions. Plus un ion est gros, moins il est conducteur. Le principe du dosage conductimétrique consiste à mesurer la conductivité d'une solution contenant dans un bécher et le volume de NaOH ou de HCl versé.

Mode opératoire

II.2.5.4.1. Dosage conductimétrique basique

Solubiliser 150mg de chitosane dans 10ml de HCl 0,1N et ramener le volume à 200ml avec de l'eau distilée. Titrer la solution par une solution de NaOH 0,1N. A chaque 0,5ml de volume versé, noter la conductivité.

Mode de calcul

Le DDA obtenu par dosage conductimétrique basique se calcule comme suit :

$$\boldsymbol{DDA}\ (\%) = \frac{\mathbf{203}.\ (\boldsymbol{V_2} - \boldsymbol{V_1}).\boldsymbol{N}}{\boldsymbol{m}\ + \mathbf{42}\ (\boldsymbol{V_2} - \boldsymbol{V_1}).\boldsymbol{N}} * \mathbf{100}(\boldsymbol{II}.\mathbf{6})$$

Où

N: la normalité de NaOH en mol/L

m: la masse du chitosane en g

203: masse molaire du monomère acétylé en g/mol

42: différence entre la masse molaire de molécule acetylé et la masse de la molécule désacétylé.

V_1, V_2: volumes de NaOH versé en mL.

II.2.5.4.2. Dosage conductimétrique acide

Disperser 150mg de chitosane dans 200ml d'eau distillée, titrer le mélange, tout en l'agitant, avec une solution de HCl 0,1N jusqu'à dépasser le point de solubilisation complète du chitosane. Mesurer la conductivité de la solution après chaque ajout de HCl.

Mode de calcul

Le DDA obtenu par dosage conductimétrique acide se calcule de la manière:

$$\boldsymbol{DDA}\ (\%) = \frac{\mathbf{203}\ .\boldsymbol{V}.\boldsymbol{N}}{\boldsymbol{m}\ + \mathbf{42}.\boldsymbol{V}.\boldsymbol{N}} * \mathbf{100}(\boldsymbol{II}.\mathbf{7})$$

Avec

V: volume de HCl versé en mL.

N: normalité du HCl en mol/L

II.2.6. Paramètres d'évaluation de l'efficacité du traitement

Le rejet d'imprimerie subit des analyses des paramètres physico-chimiques et biologiques, avant et après traitement.

II.2.6.1. Les paramètres physiques

Tous les éléments chimiques importants dans l'eau ont été dosés à savoir des éléments majeurs : la couleur, la turbidité ainsi que la conductivité de l'eau . La température, le pH, ont été aussi déterminés.

II.2.6.1.1.Matières en suspension (NFT 90-105, 1978)

Les Matières en suspension MES désigne l'ensemble des matières solides insolubles visibles à l'œil nu présentes dans un liquide. Plus une eau en contient, plus elle est dite turbide.

Principe

L'eau est filtrée et le poids de matières retenues par le filtre est déterminé par pesée différentielle. La méthode utilisée est celle par filtration un filtre whatman GF/C 47mm.

Mode opératoire

Le filtre est pesé, le mettre en place sur l'équipement de filtration, puis mettre en marche le dispositif d'aspiration. 100ml de l'échantillon est versé sur le filtre, rincer la fiole ayant contenu l'eau à analyser avec 10ml d'eau distillée et faire passer sur le filtre cette eau de lavage. Le filtre est séché dans l'étuve à 105°C pendant 2heures, puis pesé de nouveau après refroidissement au dessiccateur.

Mode de calcul

La teneur de l'eau en MES, exprimée en milligrammes par litres, est donnée par l'expression:

$$\boldsymbol{MES}\ (\%) = \frac{(\boldsymbol{M_2} - \boldsymbol{M_1}) * \mathbf{1000}}{\boldsymbol{V}} (\boldsymbol{II.8})$$

Où

M_1: masse en milligrammes du disque filtrant avant utilisation

M_2: masse en milligrammes du disque filtrant après utilisation

V: volume en millilitres d'échantillons mis en jeu

II.2.6.1.2.Température

La détermination de la température est faite au laboratoire à l'aide d'un thermomètre incorporé à la conductimètre étalonné avant chaque manipulation. On lit directement la température exprimée en degré Celsius (°C).

II.2.6.1.3.Le pH(NFT 90-008, 1953)

Principe

Le principe est basé sur la détermination de la quantité des ions hydronium H+ dans une solution. Le pH est mesuré électroniquement au moyen d'un pH-mètre à lecture directe, en utilisant une électrode de verre.

Mode opératoire

La valeur du pH est mesurée directement à l'aide d'un pH-mètre. La sonde électrique du pH-mètre est plongé dans l'échantillon, noter la valeur du pH qui s'affiche sur l'écran.

II.2.6.1.4.Turbidité

Plus la turbidité est élevée et moins la photosynthèse pourra avoir lieu. La turbidité est une mesure de la limpidité relative de l'eau. La valeur de la turbidité de l'échantillon à analyser s'affiche sur l'écran du turbidimètre, après avoir introduit dans le tube l'eau à analyser.

II.2.6.1.5. La Couleur

Elle est exprimée en couleur « apparente » ou en couleur « vraie » en suspension. La couleur vraie est déterminée après filtration de l'échantillon tandis que la couleur apparente est déterminée directement par l'eau brute à analyser. L'échantillon à analyser est placé dans un tube à essai de 10ml, le mettre dans le spectromètre après avoir y met le blanc (eau distillée), noter la valeur qui s'affiche sur l'écran, exprimée en milligrammes par litres de platine-cobalt.

II.2.6.1.6. La conductivité (NF EN 27888, ISO 7888, 1994)

La détermination de la conductivité se fait par la mesure de la résistance électrique de la solution. La conductivité d'une solution est mesurée directement à l'aide d'un conductimètre, en plongeant dans l'eau à analyser, la sonde électrique du conductimètre. La valeur qui s'affiche sur l'écran est notée.

II.2.6.1.7. Demande Biochimique en Oxygène (AFNOR NFT 90-103, 1975)

La Demande Biochimique en Oxygène ou DBO est la quantité en oxygène consommée par des micro-organismes, après incubation durant 5 jours, à 20°C et dans l'obscurité, pour assurer la dégradation des substances organiques présentes dans l'échantillon

Principe

Le principe repose sur la préparation d'une solution obtenue par dilution de l'échantillon à l'aide d'une eau de dilution apportant un ensemencement, une incubation pendant 5 jours à l'obscurité à température égale à 20°C et la mesure de la quantité d'oxygène consommée.

Mode opératoire

La DBO est mesurée 2 fois, après le prélèvement de l'échantillon et 5 jours après l'incubation. L'échantillon est dilué dans une quantité d'eau telle que le taux d'oxygène résiduel reste inférieur à 50% du taux initial.

II.2.6.1.8. Demande Chimique en Oxygène (NFT 90-101, 1988)

La Demande Chimique en Oxygène ou DCO est la consommation en oxygène par les oxydants chimiques forts pour oxyder les substances organiques et minérales de l'eau.

Principe

Le principe consiste à faire une ébullition à reflux d'une prise d'essai de l'échantillon, en milieu acide et en présence d'une quantité connue de dichromate de potassium, de sulfate d'argent jouant le rôle d'un catalyseur d'oxydation et de sulfate de mercure (II) permettant de complexer les ions chlorures. L'excès de dichromate avec une solution titrée de sulfate de fer (II) et d'ammonium est déterminé et la DCO est calculée à partir de la quantité de dichromate de potassium réduite.

Mode opératoire

5ml de la solution de dichromate de potassium et quelques granules régulateurs d'ébullition sont ajoutés à la prise d'essai, le mélange est homogénéisé soigneusement. Ajouter lentement et avec précaution, 15ml d'acide sulfurique-sulfate d'argent en agitant soigneusement la fiole d'un mouvement circulaire et en la refroidissant sous l'eau courante froide de façon à éviter toute perte de substances organiques volatiles. La fiole est reliée aux réfrigérantes, et portée à ébullition à reflux pendant 2 heures. Après refroidissement, la paroi interne du réfrigérant est lavée avec de l'eau distillée, en recueillant les eaux de lavage dans la fiole. Débrancher ensuite le réfrigérant de la fiole, et compléter à environ 75 ml avec de l'eau et refroidir à température ambiante. Titrer l'excès de dichromate avec la solution de sulfate de fer (II) et d'ammonium, en présence d'une ou deux gouttes de la solution d'indicateur à la ferroine.

Expression des résultats

La DCO est exprimée en milligrammes par litres d'oxygène, est donnée par l'expression suivante :

$$\boldsymbol{DCO} = \frac{\boldsymbol{8000 * C * (V_1 - V_2)}}{\boldsymbol{V_0}} \ (\boldsymbol{II.9})$$

Où

C: la concentration en moles par litre de la solution de sulfate de fer II et d'ammonium

V_0: volume en millilitres de la prise d'essai

V_1: volume en millilitres de sulfate de fer et d'ammonium nécessaire au dosage

V_2: volume en millilitres de sulfate de fer et d'ammonium nécessaire à l'essai blanc

II.2.7. Essai de traitement du rejet d'imprimerie

La méthode de traitement utilisée est le procédé de coagulation-floculation, en utilisant comme coagulant- floculant la solution de chitosane.

Principe

La turbidité et la couleur d'une eau sont principalement causées par des très petites particules, appelées particules colloïdales. Le procédé de coagulation –floculation élimine ces particules et facilite leur agglomération. La floculation facilite les contacts entre les particules déstabilisées, ces particules s'agglutinent pour former un floc qui est facilement éliminé par décantation.

Mode opératoire

Le floculant est préparé comme suit : 1% de poudre de chitosane est solubilisé dans 25 ml d'eau distillée pendant 12 heures, le chitosane se précipite en bas (le chitosane n'est pas soluble dans l'eau). Ensuite, l'eau distillée est remplacé par de l'acide acétique 2%, et laissé pendant 12 heures, la solution de chitosane est obtenue.

4 ml de solution de chitosane est ajouté dans 196 ml d'eau à traiter dans un bécher, le pH est augmenté avec du NaOH 0,1N jusqu'à obtention de pH égale à 6,5 en l'agitant lentement. Le mélange est agité rapidement et fortement pendant 20 secondes, puis lentement pendant 30 minutes (Mourad, 2012). Laisser décanter. L'eau traitée est récupérée à l'aide d'une pipette.

PARTIE III:

RESULTATS ET DISCUSSIONS

III.1. Analyses physico-chimiques des matières premières

III.1.1. Préparation de la matière première

Les matières premières sont préparées pour pouvoir entamer à l'hydrolyse acide et basique, pour obtenir les poudres de chitine et de chitosane. La figure 18 suivante illustre les parts des produits obtenus par le décorticage des crabes. Ils se répartissent entre 40% de chair, 25 % de carapace, 20 % de pinces et 15 % de pattes.

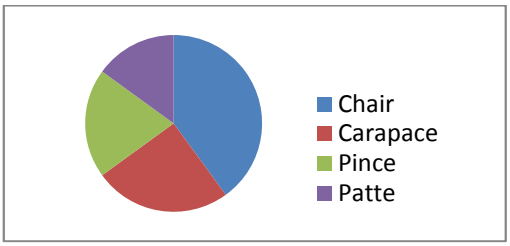


Figure 18: Parts des produits obtenus après décorticage

Après broyage de la carapace, pince et patte de crabe sèches, les poudres obtenues sont tamisés. Les poudres ayant de granulométrie supérieure à 3 mm sont utilisés et choisies pour l'extraction de la chitine par voie chimique. Ce choix est effectué pour éviter les pertes élevées lors des lavages et filtrations successives.

III.1.2. Analyses physico-chimiques de la matière première

Les analyses physico-chimiques réalisées dans cet travail sont basées sur la détermination de la teneur en eau de la poudre de carapace, pince et patte de crabes, de sa teneur en minéraux (cendres) , de ses teneurs en protéines, en chitine, et en lipides, ainsi que la mesure du pH. Les résultats des analyses physico-chimiques de poudre des co-produits de crabes sont indiqués dans les tableaux 6, 7, 8 et 9 suivants:

III.1.2.1. Valeurs du pH

Tableau 6: Valeurs du pH des poudres de déchets de crabes

	Carapaces	Pinces	Pattes
pH	9,78	9,54	9,12

Le tableau 6 montre que la poudre de crabe *Scylla seratta* possède un pH basique qui varie entre 9,12 et 9,78

III.1.2.2. Parmi les matières minérales

Tableau 7: Teneur en cendres et en quelques éléments minéraux

		Carapaces	Pinces	Pattes
Cendres brutes%		68,36	67,39	37,40
Eléments minéraux en g/100g	Ca	23,83	24,10	11,30
	Mg	1,73	1,57	0,78
	Na	0,65	0,84	1,23
	K	0,09	0,13	0,58

Un taux de cendres de 68,36% pour la carapace, 67,39% pour la pince et 37,40% pour la patte, les co-produits de crabe contiennent donc une forte teneur en minéraux. Que ce soit carapace, pince ou patte, le taux de calcium dans la poudre est très élevé, 24,10% pour la pince et 23,83% pour la carapace, et c'est probablement, le responsable de cette alcalinité. Cependant, il est constaté que le taux de cendres obtenu est supérieur à celui obtenu par Rakotoarisoa (2014) qui est de 21,55% chez les *Scylla seratta* et par Razafindrakoto (2016) de 23,47% chez la crevette *Penaeus indicus*.).

III.1.2.3. Parmi les matières organiques

Tableau 8: Teneur en protéines et en lipides

	Carapaces	Pinces	Pattes
Protéines %	8,43	11,22	9,57
Lipides %	0,02	0,27	0,23

La teneur en lipides est très faible, mais riche en protéines. La carapace de crabes renferme un taux protéique de l'ordre de 8,43%, il reste aussi plus faible, que celui obtenu par Arbia (2010) chez les crevettes d'espèce *Parapenaeus longirostris* avec un taux de 12 %.

III.1.2.4. Teneur en eau

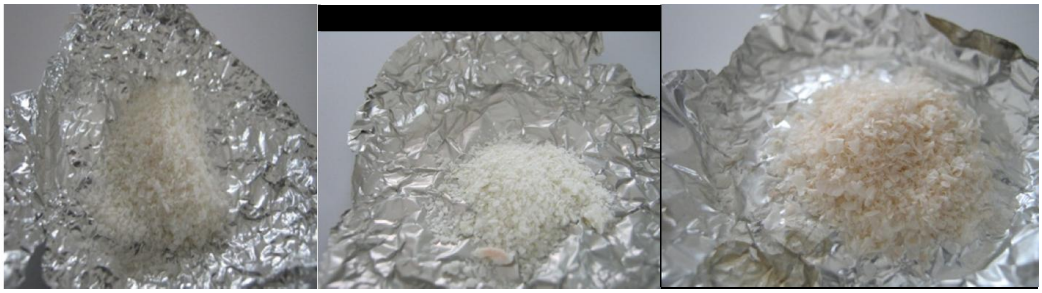
Tableau 9: Teneur en eau

	Carapaces	Pinces	Pattes
Humidité %	3,15	4,14	7,13
Matière sèche %	96,85	95,86	92,87

Le taux de matière sèche de la carapace de crabes de boue est de 96,85% ce qui donne une humidité de 3,15%, et 92,87% de matière sèche pour la patte.

III.2. Analyses physico-chimiques de la chitine

La chitine obtenue subit des analyses physico-chimiques comme celles effectués sur les poudres de déchets de crabes. La photo 16 suivante montre la poudre de chitine obtenue à partir des poudres de carapace, de pince et patte de crabes, après hydrolyses acide et basique. Il semble que les chitines obtenues à partir de la carapace et pince, sont de couleur blanche et celle de patte est rose. Ceci est peut être dû à la présence de chair de crabe dans la patte de crabe ou peut être à une inefficacité de la réaction de déprotéinisation.



a b c

Photo 16: Poudre de chitine obtenue à partir de carapaces (a), pinces (b) et pattes (c) de crabes.

III.2.1. Rendement en chitine

Le rendement en chitine est la différence de poids entre la matière première avant et après hydrolyse. Il est obtenu selon la formule suivante:

$$\boldsymbol{R}(\%) = \frac{\mathbf{100} * \boldsymbol{M_1}}{\boldsymbol{M_0}} (\boldsymbol{III.1})$$

Avec:

R: Rendement en chitine

M_1: Masse des poudres de crabes avant hydrolyse

M_2: Masse des poudres de chitine après hydrolyse

La figure 19 suivante montre le rendement en chitine contenu dans les crabes de mangrove.

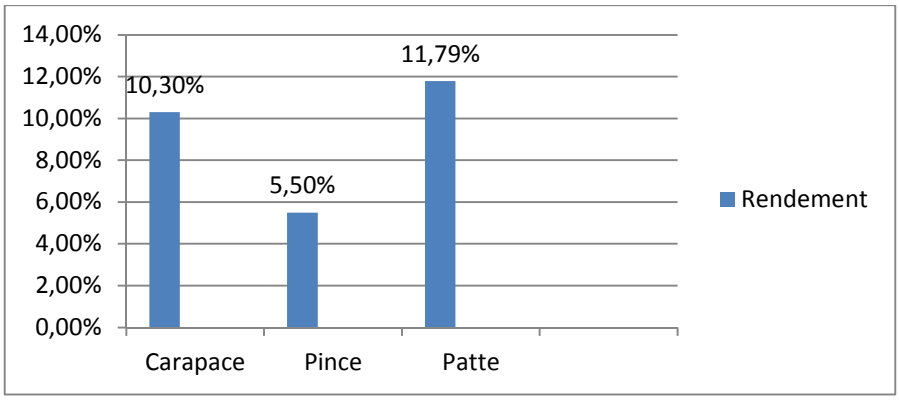


Figure 19: Pourcentage de chitine dans les déchets de crabes

Le rendement en chitine de la carapace de crabe de paluvétier *(Scylla seratta)* est égal à 10%, 5,5% pour la pince et 11,79% pour la patte. La faible valeur du rendement de chitine pour la pince de crabe est peut être dû à la perte lors des lavages et filtrations successives effectuées pendant les traitements acide et basique des poudres des déchets de crabes. L'importance rendement en chitine dans la patte de crabes peut être expliquée par la faible taux en élements minéraux dans la patte par rapport à ceux dans la carapace et pince. Le taux de cendres est égal à 37,49% dans la patte alors que ceci est de 68,36% dans la carapace. Les déchets de crabes utilisés lors de cet travail de recherche contiennent donc de 10 à 12% de chitine. Alors que l'étude bibliographique effectuée par Mourad (2012) a montré que les crabes marbrés *(Grapsus marmoratus)* et les crabes rouges *(Portunus puber)* contiennent 10% de chitine.Par ailleurs, les déchets de corps de crevettes contiennent 27%, 13,5 à 17,5% pour les déchets de têtes de crevettes, 13 à 15% de chitine pour les déchets de crabes, selon Randrianasolo (2003). Selon l'étude bibliographique donné par Mignotte et al.(2012), la pourcentage de chitine dans les crabes est de 10%, 22% pour les crevettes. 44% de chitine dans les crevettes *(Palaemon fabricius)*, et 32% dans les langoustes *(Palinurus vulgarius)* selon la synthèse bibliographique de Moukrani (2013).

III.2.2. Caractéristiques physico-chimiques de la chitine

La chitine a été analysée physico chimiquement pour voir les pourcentages des composants contenant dans la chitine et pour pouvoir calculer le degré de déminéralisation et le degré de déprotéinisation, pour connaître l'efficacité de ces

réactions. Le tableau 10 suivants résume les caractéristiques physico-chimiques de la chitine.

Tableau 10: Caractéristiques physico-chimiques de la chitine

		Carapaces	Pinces	Pattes
Humidité%		5,15	4,81	5,13
Matière sèche%		94,85	95,19	94,87
Cendres %		0,0044	0,0076	0,0043
Eléments minéraux en g/100g	Ca	0,028	0,216	0,124
	Mg	0,0017	0,0012	0,0016
	Na	0,016	0,014	0,015
	K	0,007	0,007	0,006

Le taux de cendres est très faible que ce soit dans la chitine obtenu à partir de la carapace de crabes, pince ou patte; de 0,0043% pour la patte et 0,0076% pour la pince. Alors que, le taux de cendres dans les déchets de crabes est de 68,36% pour la carapace et 37,40% pour la patte. Ce tableau montre que l'élément majeur dans la chitine est le calcium, c'est qui explique l'intérêt du chitosane dans la médecine, le chitosane est un agent coagulant du sang et cicatrise les blessures. Il existe donc une grande différence des taux de cendres de la chitine et ceux des matières premières. Le taux des éléments minéraux Ca, Mg, Na, K en g/100g dans la chitine est très faible, de 0,028 pour la carapace et 0,216 pour la pince pour le Calcium. Alors que ceux-ci sont de: 23,83 pour la carapace et 24,10 pour la pince pour le Calcium dans les poudres des déchets de crabes. Cette grande différence peut être due à l'efficacité de la réaction de déminéralisation, qui consiste à éliminer les éléments minéraux abondants dans les déchets de crabes.

Les résultats des taux en cendres et en éléments minéraux dans le tableau 10 ci-dessus signifieraient que les éléments minéraux les plus abondants dans les déchets de crabes sont éliminés. La teneur en matière sèche dans la chitine est de 94,85% pour celle obtenu à partir de la carapace, de 95,19% pour la pince; ceci implique une humidité égale à 5,15% pour la carapace et 4,81% pour celle de la pince. Les valeurs de la matière sèche et celles de l'humidité sont à peu-près proches de celles des poudres de déchets de crabes.

III.2.3. Indicateurs de performances de la réaction

Le degré de déminéralisation et le degré de déprotéinisation sont des indicateurs pour suivre l'efficacité de la réaction de déminéralisation et de la déprotéinisation respectivement.

Le degré de déminéralisation ou DM représente le pourcentage de matières minérales perdues suite à l'hydrolyse acide. Le DM se calcule comme suit :

$$\boldsymbol{DM}\ (\%) = \frac{\boldsymbol{A_0 M_0 - A_r M_r}}{\boldsymbol{A_0 M_0}} * \mathbf{100}\ \ (\boldsymbol{III.2})$$

Où

A_0 et A_r: les pourcentages des cendres dans la matière première et la chitine respectivement.

M_0 et M_r: les masses initiale et résiduelle du produit hydrolysé.

Le degré de déprotéinisation ou DP représente le pourcentage de protéines perdues lors de l'hydrolyse basique. Le DP est calculé selon la formule suivante:

$$\boldsymbol{DP}(\%) = \frac{\boldsymbol{P_0 M_0 - P_r M_r}}{\boldsymbol{P_0 M_0}} * \mathbf{100}\ \ (\boldsymbol{III.3})$$

Avec:

P_0 et P_r: les pourcentages des protéines dans la matière première et la chitine respectivement

M_0 et M_r: les masses initiale et résiduelle du produit hydrolysé

Malheureusement, dans ce travail, le calcul du DP n'a pas pu être effectué. Nous n'avons pas de méthode pour analyser le taux de protéines dans la chitine.

Le graphe ci-dessous montre la valeur du taux de déminéralisation de la carapace, pince et patte de crabe.

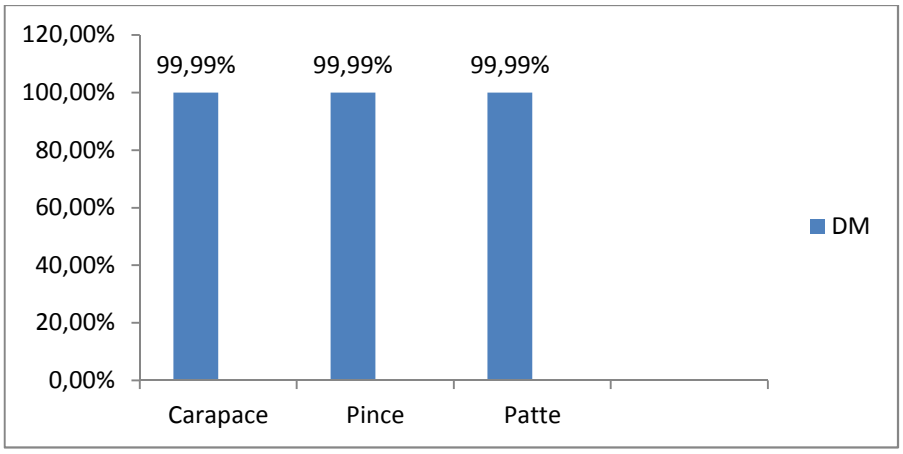


Figure 20: Indicateurs de performance de la réaction de déminéralisation

D'après le graphe ci-dessus, les degrés de déminéralisation ou DM de la carapace, pince et patte de crabes sont égales à 99,99%. Ces résultats montrent que la réaction de déminéralisation est efficace à 99,99%. Les éléments minéraux les plus abondants dans les déchets de crabes utilisés sont donc éliminés totalement. Selon les travaux de recherche de Xu et al. (2008), utilisant comme méthode la fermentation, le DM est de 99,60% pour les carapaces de crevettes. Alors que ceux-ci sont de 90,60% et 55,27% pour les carapaces de crevettes ; et pour les têtes de crevettes, le DM est égal à 89,36%, utilisant l'hydrolyse enzymatique comme méthode, selon les recherches effectuée par Vaosolomalala (2014). Ces différences pourraient être expliquées par la différence des méthodes utilisées (voie chimique ou enzymatique), lors des réactions de déminéralisation et de déprotéinisation. Il se peut aussi que ceux-ci pourraient être causés par le fait que les matières premières utilisées ne sont pas dans les mêmes espèces. Il parait que les DM et DP obtenus à partir de deminéralisation et déprotéinisation chimiques sont meilleures que ceux obtenus par hydrolyse enzymatique.

III.3. Caractérisation de la chitine

La plus importante caractéristique de la chitine est la DA ou Degré d'Acétylation avec DA=100-DDA. Les analyses par FTIR (spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier) sont des analyses permettant de suivre la cinétique d'une réaction, d'estimer la pureté de l'échantillon et de mesurer le DA d'un polymère. Une étude permettant d'indexer les spectres FTIR, les relations entre les bandes d'absorption et la structure moléculaire correspondante. Pour connaître donc le DA de la chitine, des analyses par FTIR ont été effectuées, les spectres IR de la chitine préparés à partir de

la carapace, pince et patte de crabes sont respectivement montrés dans les figures 21, 22 et 23 suivantes.

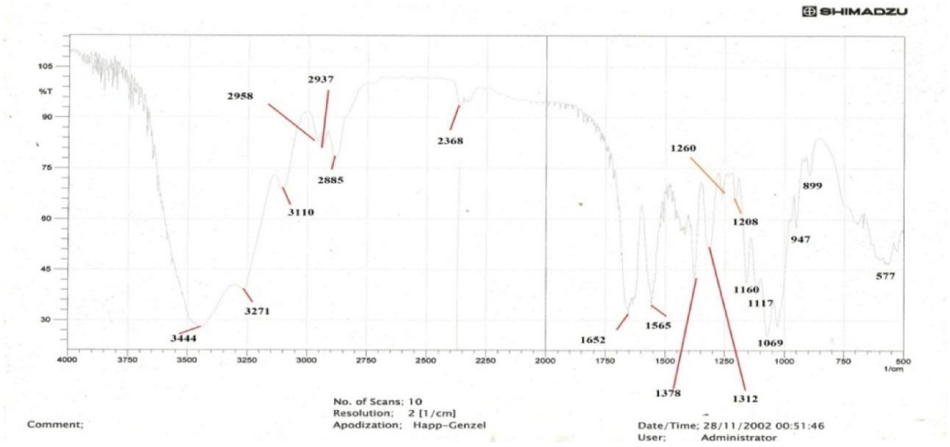


Figure 21: Spectre FTIR de la chitine obtenue à partir de la carapace de crabe

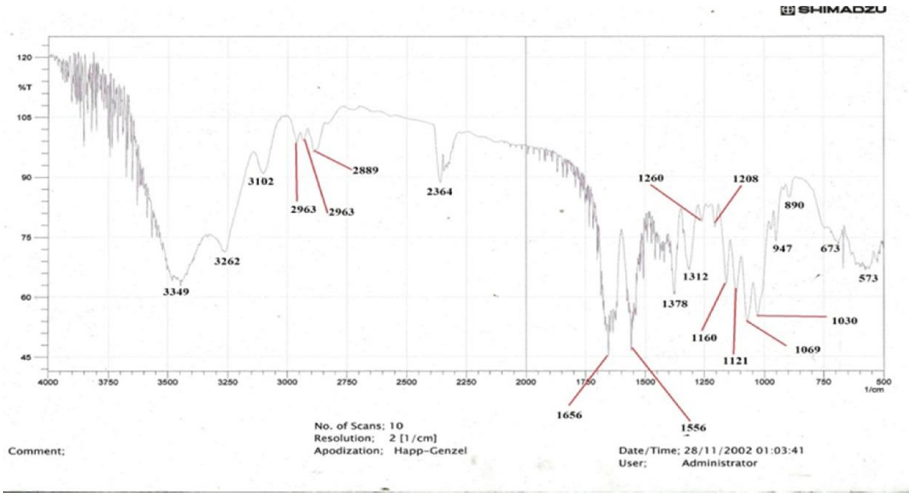


Figure 22: Spectre FTIR de la chitine obtenue à partir de la pince de crabe.

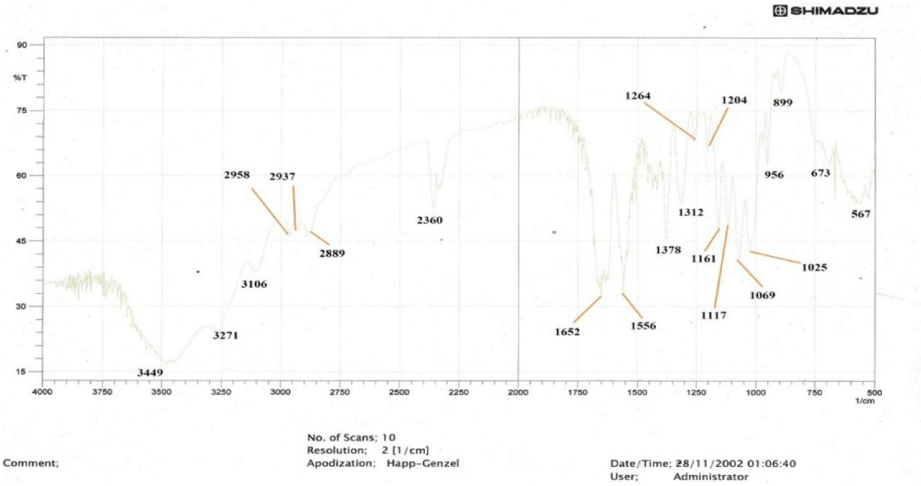


Figure 23: Spectre FTIR de la chitine obtenue à partir de la patte de crabe

Les trois spectres montrent une large bande à 3110 à 3444 cm^{-1} qui correspond aux vibrations d'élongation de –NH et –OH. Les absorbances des pics à 2885- 2958 cm^{-1} sont dues aux vibrations d'élongation de –CH et $–CH_2$. Deux pics caractéristiques de la chitine apparaissent à 1652 et 1565 cm^{-1} qui sont respectivement dus aux vibrations d'élongations de la liaison C=O de l'amide I et celle de l'amide II. Des bandes correspondants aux vibrations de déformation de –NH et –OH se situent respectivement à 1565 cm^{-1} et à 1260 cm^{-1}.

Les principales bandes des spectres IRTF de la chitine sont resumées dans le tableau 11 suivante:

Tableau 11: Principales bandes des spectres IRTF de la chitine

Bandes (cm^{-1})	Liaison	Nature de la vibration
3110, 3271, 3444	N-H, O-H	Elongation
2885, 2958	C-H, CH_2	Elongation
1652	C=O amide I	Elongation
1565	C=O amide II N-H	Elongation Déformation
1260	O-H	Déformation
1208	C-N	Elongation
1117	C-O de la liaison C-O-C	Elongation
1069	C-O de la liaison CH-O-C	Elongation
899	C-H	Déformation

Il n'y avait pas de différence entre ces trois spectres FTIR, celle de la carapace, pince et patte de crabe. La détermination du DA est donnée selon la formule suivante:

$$\boldsymbol{DA}\ (\%) = \left[\mathbf{1} - \left(\frac{\boldsymbol{A1560}}{\boldsymbol{A2875}} * \frac{\mathbf{1}}{\mathbf{1,33}}\right)\right] \quad (\boldsymbol{III.4})$$

Où

A_{1560}: Intensité de la bande d'absorption de déformation de N-H

A_{2875}: Intensité de la bande d'absorption des élongations des fonctions C-H

Les valeurs du DA de la chitine sont données dans le tableau 12 suivant:

Tableau 12: Valeurs du DA de la chitine

Chitine	DA %
Ch C	67,86
Ch Pi	63,78
Ch Pa	68,21

Le DA et le DDA sont les principales caractéristiques physico-chimiques de la chitine. Le tableau ci-dessus montre une valeur de DA égale à 67,86% pour la chitine obtenue à partir de la carapace de crabe, 63,78% pour celle de la pince et 68,21% pour la patte. Ces résultats montrent une valeur de DA supérieur à 50%, qui est le cas de la chitine selon Mignotte et al. (2012) et de DDA proches de 30% pour la chitine selon la même source. Ceci est peut-être la conséquence du traitement basique lors de la deprotéinisation.

Le chitosane est obtenu après traitement basique de la chitine, les pertes sont très importantes après lavages et filtrations successives. Cependant, après la purification du chitosane, les impuretés sont plus de 60% du chitosane, le chitosane pur est minime. La photo 17 suivante montre les poudres de chitosane obtenues après d

a b c

Photo 17: Poudre de chitosane provenant respectivement de la carapace (a), pince (b) et patte (c) de crabe

III.4. Caractérisation du chitosane

Il existe plusieurs méthodes pour caractériser le chitosane, plus précisément pour déterminer le DDA, qui est la caractéristique la plus importante du chitosane. Pour ce faire, quatre méthodes à savoir : le balayage par spectrophotométrie UV-VIS, le dosage par FTIR, le dosage conductimétrique et le dosage pH-métrique ont été éfféctués. Une seule méthode n'est pas suffisante, il fallait faire les quatre si possible.

III.4.1. Balayage par spectrophotométrie UV-VIS

Les spectres UV représentés par les figures 24, 25 et 26 suivantes sont respectivement des spectres UV du chitosane commercial, ceux des chitosanes obtenus à partir de la carapace et patte de crabe *Scylla seratta*.

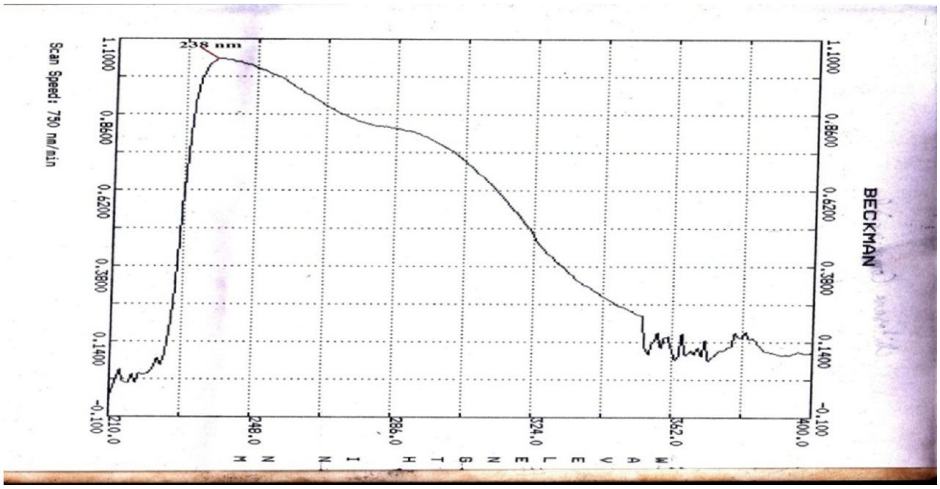


Figure 24: Spectre UV du chitosane commercial, concentration 1% dans 2% d'acide acétique.

Ces spectres UV montrent une bande caractéristique de chitosane à une longueur d'onde de 238nm

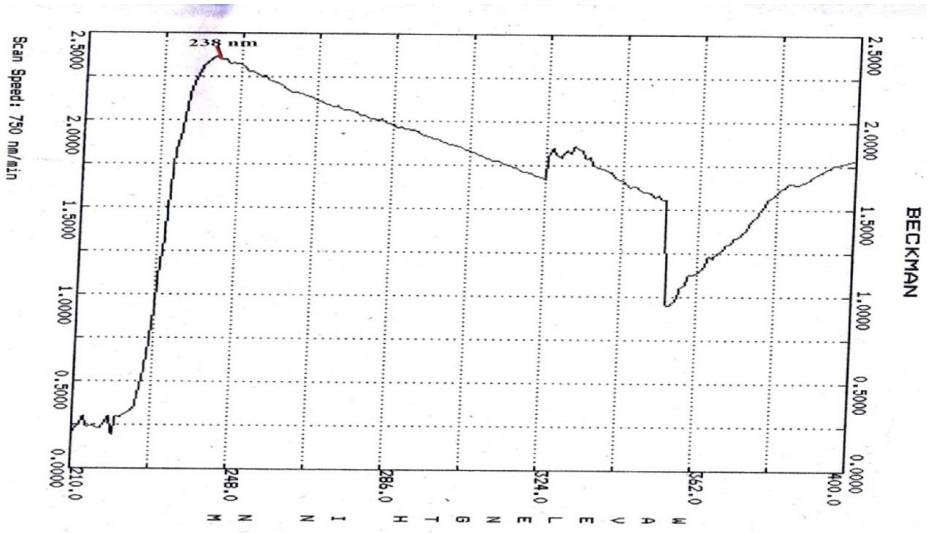


Figure 25: Spectre UV de chitosane obtenu à partir de la carapace de crabe, concentration 1% dans 2% d'acide acétique.

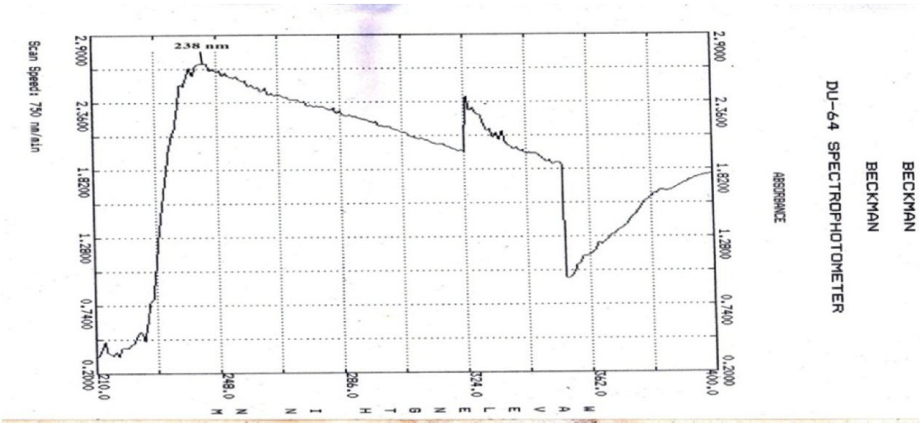


Figure 26: Spectre UV de chitosane obtenu à partir de la patte de crabe de mangrove, concentration1% dans 2% d'acide acétique.

Que ce soit chitosane commercial, ou chitosanes obtenus à partir de carapaces et pattes de crabe *Scylla serrata*, la longueur d'onde maximale absorbée est égale à 238nm. Alors que l'étude effectué par Assaad (2006), le spectre UV montre une bande caractéristique à une longueur d'onde de 285nm-290nm, où 1% du chitosane est solubilisé dans 2% d'acide acétique. Et selon les recherches menées par Kurmiska et al. (2010), la longueur d'onde maximale absorbée par le chitosane est égale à 201 nm où le chitosane est solubilisé dans une solution d'acide chlorhydrique 0,1M. Cette différence est peut être due à la différence des appareillages utilisés lors du balayage par spectrophotométrie UV. Il est aussi constaté que, ceci est dû aux différentes qualités du chitosane, car il est possible d'obtenir des différents types de chitosane à partir d'une même chitine, en changeant la durée et la température de désacétylation. Et il est probable que la variation de la longueur d'onde maximale du chitosane est due aux différents types de chitine obtenus en changeant les durées et les températures de déminéralisation et de déprotéinisation; et peut être même aux différences de matières prémières utilisés.

Cependant, il est constaté qu'il existe une petite différence entre le spectre UV du chitosane commercial et ceux des chitosanes préparés à partir de carapace et pattes de crabes. Cette différence est remarquée au niveau des petites bandes situées à 324 à 400 nm.

Une courbe d'étalonnage est établie à la longueur d'onde maximale égale à 238nm, en diluant la concentration de la solution du chitosane commercial, qui sert de référence. Pour établir cette courbe d'absorbance en fonction de la concentration de la solution du chitosane A= f(C), il suffit de diluer la concentration connue du chitosane commercial. L'acide acétique 2% sert d'étalon. Le but est de déterminer la

concentration du chitosane pur dans les chitosanes préparés à partir de la carapace, pince et patte de crabe. La courbe d'étalonnage obtenue est présentée dans la figure 27 suivante:

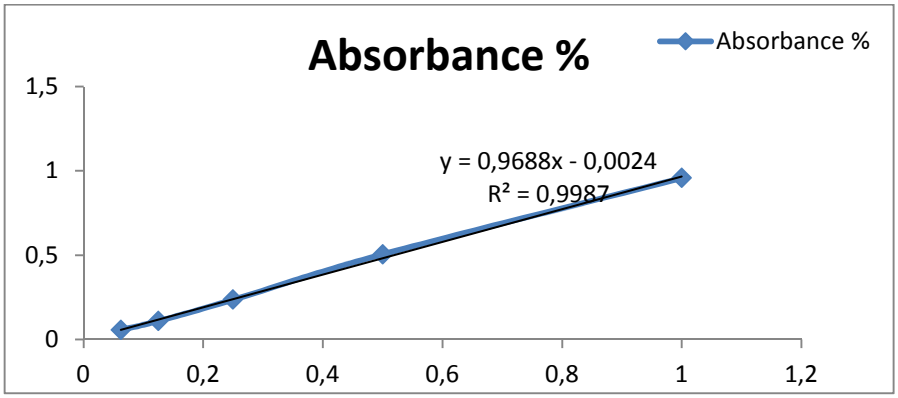


Figure 27: Courbe d'étalonnage A=f (C)

La courbe d'étalonnage absorbance en fonction de la concentration du chitosane est une droite linéaire qui passe par l'origine. Plus la quantité du chitosane est grande, plus l'absorbance l'est aussi. La valeur de la concentration inconnue de la solution du chitosane est déterminée par l'équation (III.5):

$$\boldsymbol{y = 0,9688\,x - 0,0024} \quad \boldsymbol{(III.5)}$$

Avec y: concentration du chitosane

x: absorbance

Tableau 13: Concentration du chitosane

	Carapaces	Pinces	Pattes
Absorbance	0,320	0,063	0,525
Concentration g/100ml	0,3076	0,0586	0,5062

Ce tableau montre que la concentration du chitosane pur dans les chitosanes provenant respectivement de la carapace, pince et patte de crabes sont de 0,3076 g/100ml pour la carapace, 0,0586 pour la pince et 0,5062 g/100ml pour la patte de crabe.

III.4.2. Dosage par FTIR

Une des méthodes efficace à mettre et largement utilisée pour déterminer le DA et DDA du chitosane est l'analyse par FTIR. Les figures 28, 29, 30, et 31 montrent

respectivement les spectres IR du chitosane commercial, des chitosanes préparés à partir de la carapace, pince et patte de crabe.

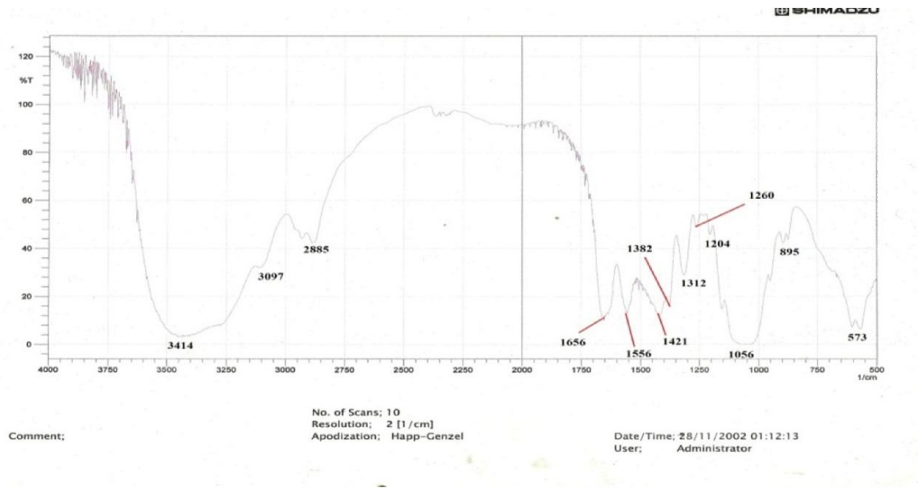


Figure 28: Spectre FTIR du chitosane obtenu à partir de la carapace de crabe

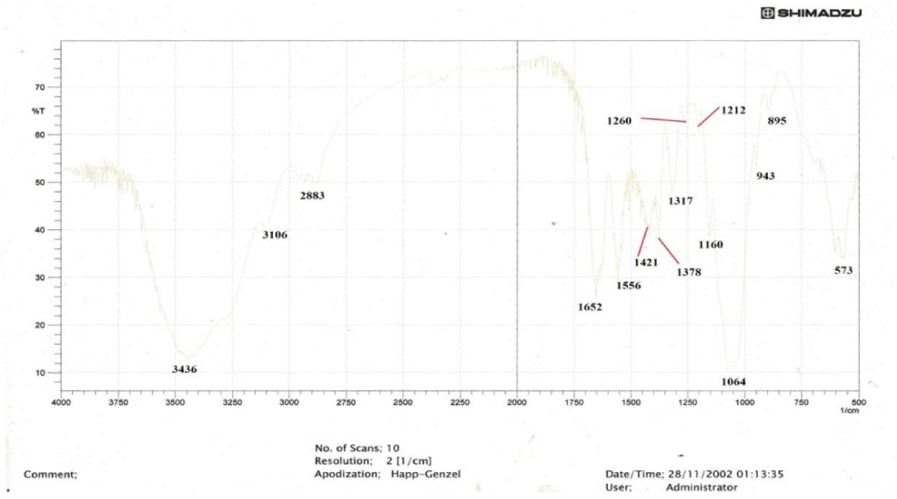


Figure 29: Spectre FTIR du chitosane obtenu à partir de la pince de crabe

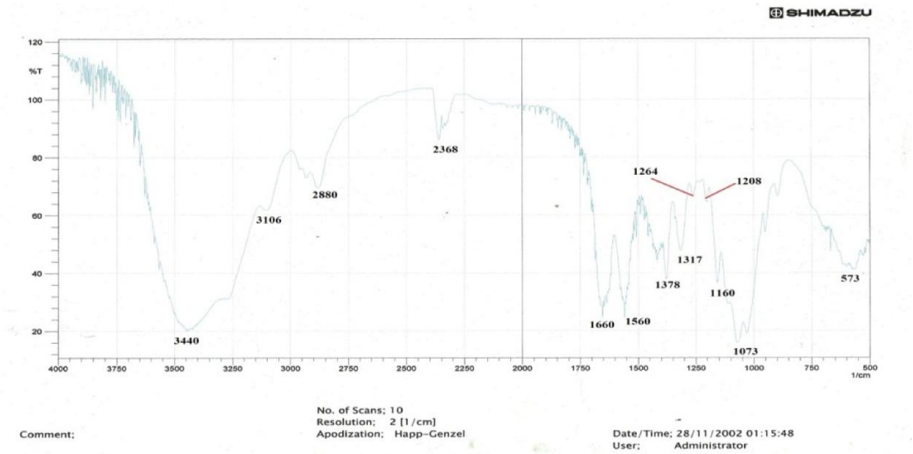


Figure 30: Spectre FTIR du chitosane obtenu à partir de la patte de crabe

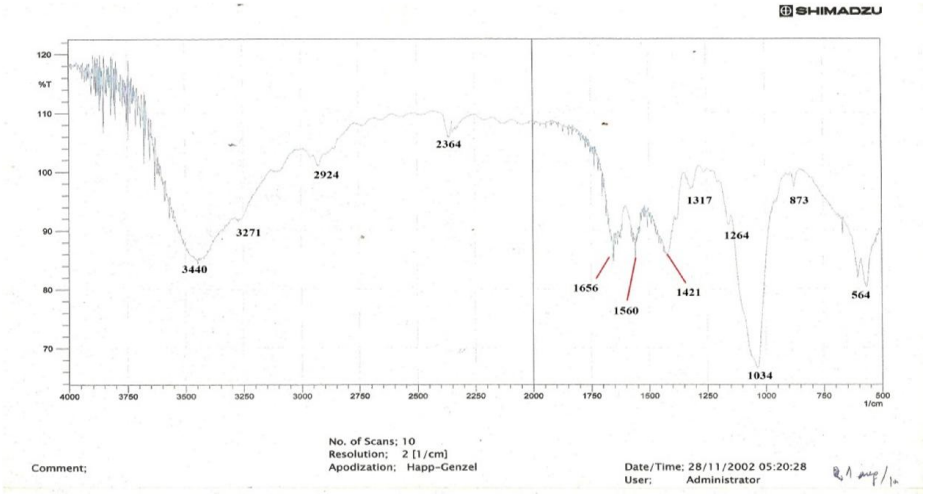


Figure 31: Spectre FTIR du chitosane commercial

Comme montrés sur les figures 28,29, et 30, il n'y a pas de différence entre les spectres FTIR des chitosanes provenant respectivement de la carapace, pince et patte de crabe. Cependant, il y a une petite différence avec le spectre FTIR du chitosane commercial, au niveau du pic absorbant à 1026 cm^{-1}, qui est intense et très fine, alors que ceci présente un doublé pour les autres trois spectres.

III.4.2.1. Interprétation des spectres FTIR

Le tableau 14 ci-dessous situe les absorbances des principales bandes caractéristiques du chitosane.

Tableau 14: Principales bandes caractéristiques du chitosane

Bandes (cm^{-1})	Liaison	Nature de la vibration
3414, 3440	N-H, O-H	Elongation
2880,2883	C-H, CH_2	Elongation
1660	C=O de l'amide I N-H	Elongation Déformation
1560	C=O de l'amide II	Elongation
1421	CH_2	Déformation
1260	O-H	Elongation
1212	C-N	Elongation
1026, 1073	C-O de la liaison C-O-C	Elongation
895	C-H	Déformation

Les bandes caractéristiques de N-H et O-H se situent à 3414 à 3440 cm^{-1}. La présence des bandes à 1660 et 1560 est attribuée respectivement aux élongations de la liaison C=O de l'amide I et celle de l'amide II. Les pics observés à 1260 cm^{-1} est dû aux vibrations de déformation de la liaison O-H. Et le pic fine et intense (surtout pour le chitosane commercial) à 1056 cm^{-1} caractérise la vibration d'élongation de C-O dans la liaison C-O-C. Dans les recherches effectuées par Crini et al. (2009), la bande absorbant à 1560 cm^{-1} qui est dû à la vibration d'élongation C=O de l'amide II disparaît. Alors que ceci est présent mais difficile à identifier dans les études menées par Mourad (2012) dans les spectres FTIR du chitosane. Par contre ici, cette bande est facilement identifiable. Tout ceci peut être expliqué par l'efficacité de la réaction de désacétylation. La présence de pic à 1556 cm^{-1} dans le spectre de l'échantillon chitosane montre que ce dernier est moins désacétylé. L'apparition des pics dus aux vibrations d'élongation de la liaison C=O de l'amide II dans ce spectre nous laisse suggérer qu'une désacétylation partielle de la chitine à lieu et un pourcentage de désacétylation faible du chitosane.

III.4.2.2. Calcul du DDA par dosage FTIR

Le calcul du DA du chitosane se fait comme celle effectuée dans le calcul du DA de la chitine. Le DDA du chitosane est obtenu selon les formules suivantes :

$$\boldsymbol{DD}\ (\%) = \mathbf{100}\ - \boldsymbol{DA}\ (\boldsymbol{III.6})$$

Ou encore:

$$\boldsymbol{DDA}\ (\%) = \mathbf{97,76}\ - \left[\mathbf{26,486}\ * \left(\frac{\boldsymbol{A1655}}{\boldsymbol{A3450}}\right)\right] (\boldsymbol{III.7})$$

Les valeurs du DA et DDA du chitosane sont données dans le tableau n° 15 suivant:

Tableau 15: Valeurs du DA et DDA du chitosane

Chitosanes	DDA%
CC	71,21%
CCa	57,92%
CPi	63,21%
CPa	66,98%

Le DDA du chitosane varie selon les conditions de désacétylation utilisées. Les valeurs du DDA du chitosane données dans le tableau ci-dessus sont supérieures à 50%, conditions données par Mignotte et al. (2012). Ces résultats montrent une valeur de DDA élevée pour le chitosane commercial, valeur supérieur à 70% et donc une valeur de DA inférieur donc à 30%. Le DDA du chitosane commercial est de 72,32% selon Mokrani (2013). Alors que pour l'étude effectuée par Keddou M. (2008), la valeur du DDA du chitosane commercial est égale à 55,77% et 44,22% de DA. Le DDA des chitosanes 1, 2 et 3 varient de 35 à 62% pour la même source. Alors qu'ici, ces valeurs sont de 57 à 66%.

III.4.2.3. Spectres FTIR de la chitine et du chitosane

Les spectres FTIR de la chitine et du chitosane commercial sont montrés à la figure 32.

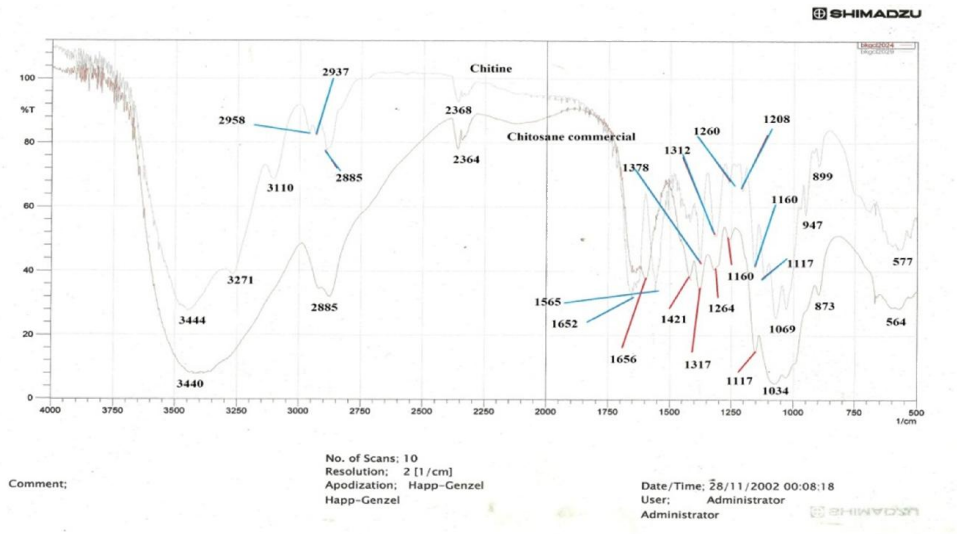


Figure 32: Spectre FTIR de la chitine et celle du chitosane commercial

Les deux spectres montrent une large bande à 3400 à 3500 cm^{-1} correspondant aux vibrations d'élongation de N-H et O-H ainsi que les liaisons d'hydrogène. Cependant, la bande principale qui se trouve à 3444 cm^{-1} dans le spectre de la chitine se déplace à 3414 cm^{-1} et devient très large dans le chitosane. Des bandes absorbent à 3271 cm^{-1} et 3110 cm^{-1} dans le spectre de la chitine alors que ceux- ci disparaissent dans le cas du chitosane commercial. Les absorbances des pics aux vibrations d'élongation de –CH et $–CH_2$ à 2885-2958 cm^{-1} deviennent plus faibles dans le cas du chitosane commercial. De pic caractéristique de la vibration d'élongation du CH_2

absorbe à 1421 cm^{-1} dans le spectre du chitosane commercial, alors que celle-ci n'est pas identifiable dans le spectre de la chitine. Un seul pic due aux vibrations d'élongation $–CONH_2$ est observé dans le chitosane à 1656 cm^{-1}, alors que dans le spectre de la chitine, deux pics caractéristiques, dues aux vibrations d'élongations de $–CONH_2$ apparaissent (Assaad, 2006). Ceux-ci peuvent expliquer que le chitosane est moins acétylé que la chitine.

III.4.3. Dosage conductimétrique

Le dosage conductimétrique est une méthode simple, et peu coûteuse par rapport aux autres méthodes d'analyses, pour calculer le DDA du chitosane (Assaad, 2006).

III.4.3.1. Dosage conductimétrique basique et dosage pH-métrique

Les courbes Cond= $f(V_{NaOH})$, obtenues par dosage conductimétrique basique et dosage pH-métrique, présentent deux points d'inflexion V_1 et V_2, utilisés dans le calcul du DDA selon la formule (II.6) dans la partie II.

Les figures 33 et 34 suivantes représentent respectivement les courbes obtenues par dosage conductimétrique basique et pH-métrique du chitosane.

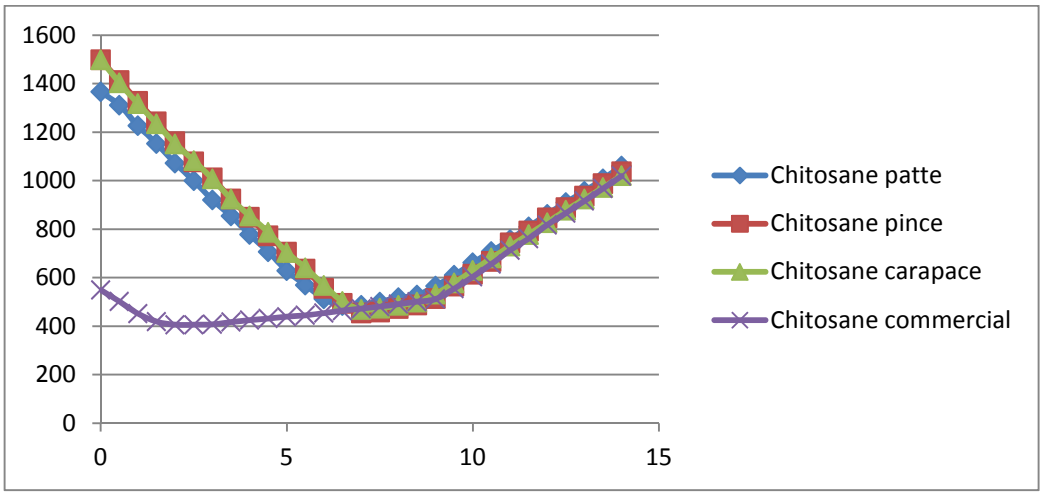


Figure 33: Dosage conductimétrique basique du chitosane

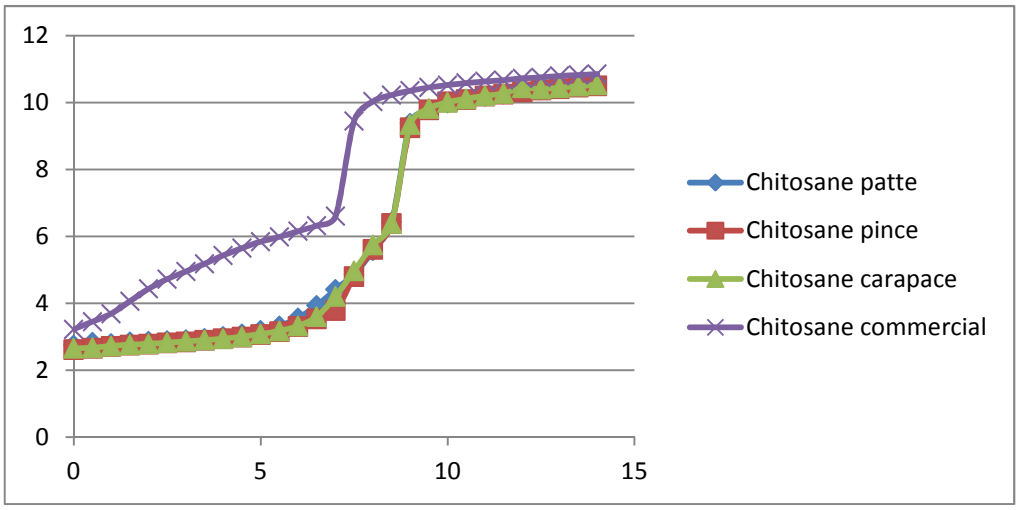


Figure 34: Dosage pH-métrique du chitosane

III.4.3.2. Dosage conductimétrique acide

Par contre, la courbe conductivité= f (V_{HCl}) présente un seul point d'inflexion V. Le DDA est obtenu selon la formule (II.7) (voir partie II).

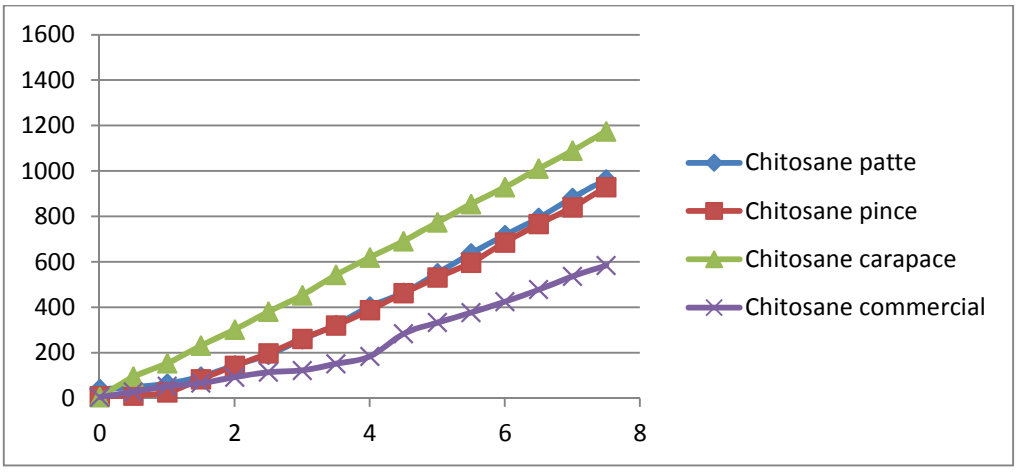


Figure 35: Dosage acide du chitosane

Les valeurs du DDA du chitosane sont données dans le tableau 16 ci-dessous:

Tableau 16: Valeurs du DDA du chitosane obtenu par dosage conductimétrique et pH-métrique

Types de dosage	CC	CCa	CPi	CPa
Dosage conductimétrique basique	79,20%	45,92%	48,86%	51,40%
Dosage conductimétrique acide	51,40%	25,92%	51,40%	37,45%
Dosage pH-métrique	43,13%	43,13%	45,92%	51,490%

Les valeurs du DDA des chitosanes préparés à partir des poudres de chitine obtenues par traitement des déchets de crabes, sont très faibles surtout pour celles obtenues par la carapace de crabes. Les DDA des chitosanes préparés varient de 25,92% à 51,40% tandis que ceux-ci varient de 43,13 à 79,20% pour le chitosane commercial. Ces valeurs sont moins importantes que celles obtenues par Assaad (2006), qui a trouvé des valeurs de DDA variant de 84 à 89%. Et même, pour les études effectuées par Keddou.M. (2008), les valeurs du DDA sont comprises entre 35 et 62% et entre 64 et 69% pour Vaosolomalala (2014). La faible valeur du DDA du chitosane obtenu par ce travail peut être expliquée par la différence ou problème du conductimètre utilisé, ou encore par l'inefficacité de la réaction de désacétylation.

Le tableau 17 suivant résume les valeurs du DDA du chitosane obtenu par dosage FTIR, dosage conductimétrique et dosage pH-métrique.

Tableau 17: Résumé des valeurs du DDA du chitosane

Types de dosage	CC	CCa	CPi	CPa
Dosage par FTIR	71,21%	57,92%	63,21%	66,98%
Dosage conductimétrique basique	79,20%	45,92%	48,86%	51,40%
Dosage conductimétrique acide	51,40%	25,92%	51,40%	37,45%
Dosage pH-métrique	43,13%	43,13%	45,92%	51,490%

Les valeurs du DDA obtenues par dosage conductimétrique et pH-métrique et par analyses spectroscopiques ne sont pas pareils, alors que ces valeurs ne devraient pas être très différentes, mais proches. Les valeurs du DDA obtenues par dosage conductimétrique et pH-métrique sont très faibles par rapport à celles trouvées par analyses spectroscopiques. Ceux-ci peuvent être dus aux problèmes du conductimètre et pH-mètre utilisés, et qui ont faussées les résultats du DDA du chitosane trouvés par dosage conductimétrique et pH-métrique.

III.5. Discussions sur l'extraction de la chitine et l'obtention du chitosane

Pendant l'extraction de la chitine par voie chimique, il est préférable de ne pas mettre en poudre fine les poudres de carapace, pince et patte de crabe pour éviter les pertes élevées lors des lavages et filtrations successives effectuées après l'étape de déminéralisation et de déprotéinisation. Il paraît qu'en extraction par voie chimique,

la taille des poudres des déchets de crabes devrait être égale à 4 mm. Il faut faire attention pendant les lavages successifs après ces deux étapes (déminéralisation et déprotéinisation), le produit déminéralisé ou déprotéinisé mal lavé empêche d'obtenir une poudre ou paillette de chitine. La photo 18 suivante montre le produit obtenu après les étapes de déminéralisation et de déprotéinisation, qui a été mal lavé après la déminéralisation.

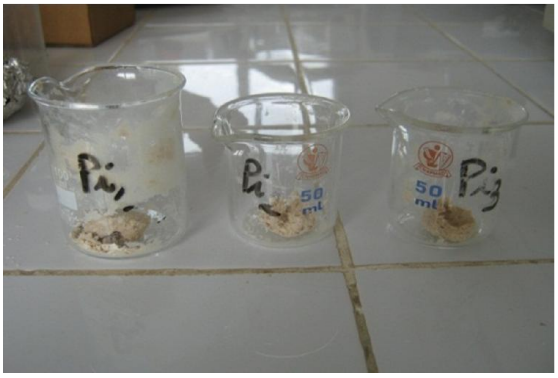


Photo 18: Produit obtenu après déminéralisation et déprotéinisation mal lavé.

Les lavages à l'eau distillée jusqu'à obtention de pH neutre, après la déminéralisation et la déprotéinisation est donc une étape très importante et à ne pas négliger.

Cependant, trois paramètres: la température, la durée de la réaction et la normalité des réactifs utilisés influent les réactions de déminéralisation, déprotéinisation et de désacétylation (Randrianasolo, 2003). Il est donc possible d'obtenir des différentes qualités de chitine et de chitosane en variant ces trois paramètres.

Le chitosane utilisé lors des dosages conductimétrique et pH-métrique, est récupérable et réutilisable. La méthode de récupération est comme suit : le chitosane est solubilisé dans de l'acide acétique 2%. Le pH de la solution du chitosane est augmenté avec du NaOH 0,1N jusqu'à pH égal à 8. Puis, laisser se précipiter. Les précipités sont ensuite récupérés et lavés successivement avec de l'eau distillée jusqu'à pH neutre. Le produit récupéré après lavage et filtration est séché à l'étuve, c'est le chitosane.

III.6. Paramètres d'évaluation de l'efficacité du traitement

Le rejet d'imprimerie luthérienne à traiter avec le chitosane subit des analyses pour évaluer l'éfficacité du traitement. Les caractères organoleptiques et quelques

indicateurs de pollutions organiques ont été évalués. Les résultats sont donnés dans le tableau 18 ci-dessous.

Normes selon l'article 5 du Décret n° 2003/464 du 15/04/03

Tableau 18: Résultats d'analyses avant et après traitement

Paramètres	Avant traitement	Après traitement				Normes
		CC	CCa	CPi	CPa	
pH	8,50	7,40	7,44	7,50	7,48	6,0-9,0
Conductivité (µS/cm)	365	797	559	974	849	200
MES (mg/L)	16	1	6	8	12	60
Température (°C)	19,4	19,7	19,6	19,7	19,5	30
Couleur Vraie (mg/L Pt-Co)	110	10	15	20	10	20
Couleur Apparente (mg/L Pt-Co)	145	15	50	50	30	
Turbidité (FTU)	12,77	5,86	1,98	4,31	5,54	25
DCO (mg/L d'O2)	89,83	488,84	403,61	498,49	476	150
DBO_5 (mg/L d'O2)	17,19	456	200	433,50	442	50

D'après les résultats obtenus selon le tableau 18 ci-dessus, il semblerait que chitosane diminue le pH, les MES, les couleurs vraie et apparente, et la turbidité de l'échantillon d'eau d'imprimerie. Par contre, il paraît qu'il augmente la conductivité, DCO et DBO de l'eau traité. Cette augmentation du DCO et DBO_5 de peut être due à la forte présence de matière organique dans le chitosane, car le chitosane est un polymère organique (Gidas, 1998). Une conductivité élevée signifie une minéralisation trop importante dans l'eau.

Le pH fait partie de l'analyse de l'eau, et il doit être mesuré de manière régulière. C'est une des premières étapes du traitement de l'eau. Le ph du rejet d'imprimerie avant traitement est de 8,50, ceci varie de 7,40 à 7,50 après traitement. L'eau qui était alcaline avant traitement devient neutre après traitement.

Cependant, il augmente les valeurs du DCO, DBO et conductivité. Les travaux de recherches effectuées par Abu Hassan et al. (2009) montrent qu'après traitement avec le chitosane, les DCO et DBO de l'eau traitée augmentent.

Le rejet d'imprimerie à traiter dans cette étude a déjà subi un traitement primaire à l'imprimerie luthérienne avant d'être traité avec le chitosane. L'Imprimerie Luthérienne utilise l'impression Offset comme procédé d'impression. L'encre pour impression Offset a une consistance visqueuse ou pâteuse. Elle est grasse et ne coule pas. Les encres à Offset contiennent des pigments, des résines dures, des résines alkyles, des distillats pétroliers ou huiles végétales et des additifs (www.cerig.efpg.inpg.fr).

L'imprimerie Luthérienne a un bassin de traitement, montré dans la figure n°35 ci-dessous et dont les produits de base sont des produits adjuvants-gommes, des acides phophoriques et de clean plate.

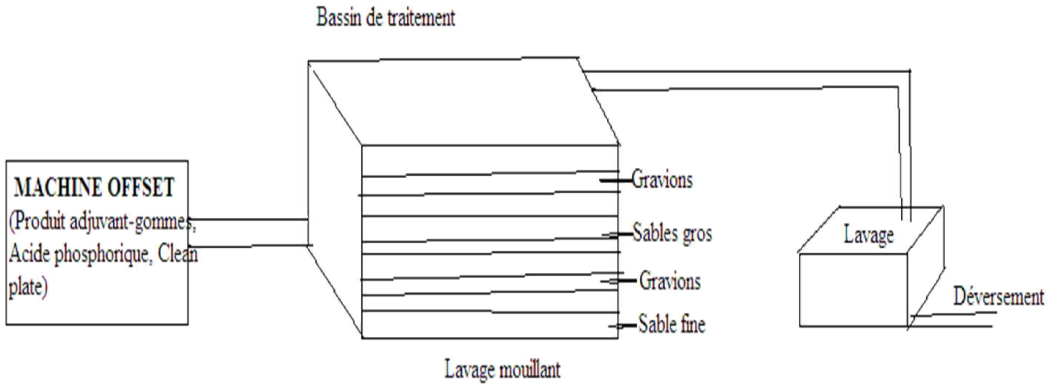


Figure 36: Bassin de traitement d'eau usée dans l'imprimerie luthérienne

Ce traitement peut expliquer les faibles valeurs du pH, MES, température, turbidité du rejet d'imprimerie par rapport à la norme. Les valeurs faibles d pH, MES, et turbidité du rejet d'imprimerie, diminuent encore plus après son traitement avec le chitosane. Cependant, ce traitement primaire effectué au sein de l'imprimerie luthérienne, n'élimine pas les colorants dans le rejet, les valeurs de la couleur vraie et apparente sont hors normes, qui sont respectivement 110 et 145 mg/L de Pt-Co pour. Tandis que celles-ci varient de 10 à 20 mg/L de Pt-Co pour la couleur vraie, après traitement, qui est en dessous de la limite recommandée par l'état malagasy. La valeur de la couleur apparente après traitement est comprise entre 15 et 50 mg/L de Pt-Co

Ces résultats nous laissent suggérer que le chitosane est très efficace pour éliminer les colorants contenant dans les eaux usées. Une eau colorée en bleu dévient limpide

et incolore (voir photo 19) après traitement par le chitosane. Cependant, les DCO DBO, et conductivité sont très élevés, qui peuvent être expliqués par la présence d'acide phosphorique dans l'échantillon d'eau à traiter. Sans oublier que l'échantillon d'eau contienne ici d'encre et de ses composants.

Photo 19: Eau traité (à gauche), eau avant traitement (à droite).

III.7. Discussions sur le procédé de coagulation-floculation

Les principaux facteurs qui influencent la coagulation-floculation sont les suivants : les caractéristiques de l'eau brute, le type et la concentration de coagulation-floculant ajoutés, le régime du mélange (temps et vitesse de rotation), l'ordre d'ajout des produits chimiques, le pH et l'alcalinité de l'eau brute, la température de l'eau, et les équipements en place (géométrie des bassins). Si l'effet de la concentration des particules colloïdales dans les eaux est faible, il y a trop peu de particules pour assurer une bonne floculation, même si elles sont neutralisées. Les eaux les plus difficiles à traiter par coagulation sont celles dont la concentration de colloïdes est faible. Les divers paramètres tels que le pH et la dose de coagulant influencent aussi ce procédé.

Le chitosane est un polymère organique (Gidas, 1998), mais c'est un coagulant et un floculant à la fois, d'origines naturelles. La quantité en excès de la solution du chitosane versé dans l'eau à traiter influence la décantation du floc formé lors du procédé de coagulation-floculation. Le floc formé ne se décante pas en bas mais en suspension en cas d'excès de chitosane.

CONCLUSION

Le présent travail avait comme objectif principal, la valorisation des déchets de crabes en vue de traitement d'eaux usées d'imprimerie. Trois objectifs ont été visés. Le premier concerne l'extraction de la chitine et l'obtention du chitosane. Le second objectif consistait à la caractérisation physico-chimique de ces deux produits extraits. Le troisième objectif de ce travail était d'étudier la performance du chitosane préalablement préparé dans l'élimination des colorants du rejet d'imprimerie luthérienne.

Dans cette étude, différents paramètres ont été étudiés. Les analyses physico-chimiques sur les carapaces, pinces et pattes de crabes et sur la chitine, ont permis de calculer le degré de déminéralisation qui est égal à 99,99% .Le rendement de la chitine dans les déchets de crabes est de 10%. Après traitement basique, le degré de désacétylation du chitosane est de 66%. Le chitosane obtenu par cette voie chimique possédait donc un degré de désacétylation appréciable, mais encore à un taux assez faible par rapport au chitosane commercial.

Le chitosane obtenu à partir des déchets de crabes est très efficace pour l'élimination des colorants. Les couleurs vraie et apparente avant traitement sont respectivement 110 et 145 mg/L Pt-Co; celles-ci varient de 10 à 50 mg/L Pt-Co après traitement avec le chitosane. L'eau colorée en bleu devient incolore. Au final, les résultats de notre étude nous laissent affirmer que le chitosane est un bon coagulant- floculant dans l'élimination des colorants dans les rejets d'imprimerie.

Cependant, le chitosane augmente les valeurs de la DCO, DBO et la conductivité de l'eau traité. Il faut encore donc trouver des solutions à ce problème. Ainsi, les perspectives portent sur:

L'utilisation du chitosane couplé avec d'autres traitements pour éviter l'augmentation des valeurs de la DCO, DBO et celle de la conductivité

L'utilisation de la RMN qui permet de compléter les résultats de la caractérisation du chitosane.

L'étude de la chitine, en l'utilisant comme floculant pour éliminer les colorants et turbidité des eaux usées.

Mettre en pratique la faisabilité du traitement industriel des eaux usées avec le chitosane.

Apporter quelques améliorations sur la fabrication par voie chimique du chitosane

.

RECOMMANDATIONS:

Il est nécessaire d'étudier les paramètres influant les réactions de déminéralisation, de déprotéinisation et de désacétylation.

Il est aussi important de faire des études socio-économiques et environnementales de l'application de la chitine et du chitosane.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES ET WEBOGRAPHIES

Abdulkarim et al., 2013, Extraction and characterization of Chitin from Mussel Shell, Civil and Environnemental Research, Vol.3, NO.2,

Abu Hassan et al., 2009, Coagulation and Floculation treatment of water in textile industry using chitosan, Journal of Chemical and Natural Resources Engineering, Vol.4 (1): 43-53 © FKKKSA, Universiti Teknologi Malaysia.

Arbia L., 2010, Contribution à l'étude de la demineralisation et la déprotéinisation de la carapace de crabe de la crevette par voie fermentaire, memoire de magister, ENP, p 3-12.

Assaad E., 2006, Etude du processus de coagulation-floculation du système montmorillonite-chitosane dans l'élimination de métaux de transition, mémoire de master, Université du Quebec, p8-13, 23-29.

Bennajah M**.**, 2007, Traitement des rejets industriels liquide par électrocoagulation/électroflottation en réacteur airlift, thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, p32.

Bouafia S., 2010, Dégradation des colorants textiles par procédés d'oxydation avancée basée sur la réaction de fenton, Application à la dépollution des rejets industriels, thèse de doctorat, Université Paris-Est, p16-17.

Castaing G. et Guilleux A**.,** 2010, Encres et vernis d'impression : composition, risques toxicologiques et mesures de prévention, Aide-mémoire technique, INRS (Institut National de Recherche et de Sécurité).

Crini G. et al. (2009), Chitine et chitosane du biopolymère à l'application, Presses universitaires de Franche- Comté, p2-9.

Dihang M. D., 2007, Mécanismes de coagulation et de floculation de suspensions d'argiles diluées rencontrées en traitement des eaux, thèse de doctorat, Université Paul Sabatier de Toulouse III, p20-24.

Durand V. Et Vergini T., 2010, Le chitosane-un biopolymère d'avenir pour les papiers antimicrobiens? Cas des emballages alimentaires, CERIG, Grenoble Pagora INP

EuPIA (European Pointing Ink Association), 2013, Impact environnemental des encres d'imprimerie, Note d'Information, p5-7.

FAO Globefish., 2008, Tuna market report - Asia. March 2008.

Farramae C. et al., 2015, Deproteination and demineralization of shrimp waste using lactic acid bacteria for the production of crude chitin and chitosan, Aquaculture Aquarum, Conservation & Legislation International Journal of the Bioflux Society.

Galli E. Et Lakhdar A.,2012, Extraction de la chitine et du chitosane obtenus à partir de biomasses, article, p56-61.

Gogev et al**.** , 2003, Les chitosanes-nouveaux adjuvants pour la vaccination par voie muqueuse chez les animaux, Article de synthèse, Université de Liège, p344-346.

H.B. Verry,1996,Quelques procédés d'impression et de reproduction, Revue analytique de l'éducation, p13-28.

Ifremer, 2012, Valorisation des co-produits, Bibliomer [en ligne], 2 (page consulté le 12 Avril 2016). Disponible sur http : // www. Bibliomer.com/

J. Brugnerotto, 2001, An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization, Polymer 42,

J.Brine C**.**, Introduction, chitin: Accomplishments and perspectives, FMC Corporation, Food and Pharmaceutical Products Division, Princeton, New Jersey 08540, p2-4.

Keddou M., 2008, Elaboration, Caractérisation et application de membranes polymères à base de chitosane, Faculté des Sciences, Université M'HAMED BOVGUERA BOUMERDES

Kurmiska et al., 2010, Application of Spectroscopy Methods for Structural Analysis of Chitin and Chitosan, Marine Drugs,

Lafleur C., 2008, Evaluation d'un procédé de coagulation-floculation au chitosane pour l'enlèvement du phosphore dans les effluents piscicoles, Ecole de technologie supérieure, Université du Quebec, SODIM, p2-8,11-16.

Le Devedec F., 2008, Séparation des oligomères du chitosane par chromatographie d'affinité sur ions métalliques immobilisés, mémoire de master, Université du Quebec à Montréal, p5-21.

Le Reste L., 1976, Etat de nos connaissances sur le crabe de vase Scylla Seratta à Madagascar, O.R.S.T.O.M (Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer), Paris, p17-20.

Le Roux K., 2012, Purification de chitine par hydrolyse enzymatique à partir de coproduits de crevettes Penaeus Vannamei. Caractérisation des produits et optimisation du procédé, thèse de doctorat, Université de Nantes, p28-47.

Mansour .H.B. et al. , 2011, Les colorants textiles sources de contamination de l'eau : Criblage de la toxicité et des méthodes de traitement, Revue des sciences de l'eau/ Journal of Water Science, vol.24, n°3, p209-238.

Marie-Beatrice G., 1998, 'Etude de la performance du chitosane comme coagulant pour enlèvement du cuivre et de la turbidité des eaux usées' Université de MONTREAL, p12-26.

Marquis-Duval F.O., 2008, Isolation et valorisation des constituants de la carapace de la crevette nordiqué, mémoire de master, Université Caval Quebec, p14-18.

Mignotte O. et al. , 2012, 'Dépolluer une eau avec des carapaces de crevettes ? Pas si complexe…', article, vol 106, Union des professeurs de physique et de chimie, p 43-55.

Mokrani N., 2013, Préparation et étude du comportement de membranes biopolymères, mémoire de magister, Université M'hamed Bougara-Boumerdes, Algérie, p27-34.

Monette F. et al. , 2007, Valorisation des résidus industriels de pêches pour la transformation de chitosane par technique hydrothermo-chimique, Université du Quebec, p2-3.

Mottot Y., 2000, Coagulants et floculants, p2.

Mourad F., 2012, Co-adsorption des métaux lourds sur la bentonite modifiée en présence de floculants minéral et biologique, mémoire de Magister, Université Mouloud Mammeri Ti-ouzou, p 13, 34-42.

MPRH **(**Ministère de la pèche et des ressources halieutiques**),** 2009, Données statistique de la production et exportation du crabe 2005-2009, p10.

Oubagha N**.**, 2011, Décontamination des eaux contenant les colorants textiles et les adjuvants par des matériaux naturels et synthétiques, thèse de doctorat, Université Mouloud Mammeri tiziouzou, p23-25, 32-33.

Rakotoarisoa T. J., 2014, «Caractéristiques biochimique et fonctionnelle des hydrolysats protéiques des co-produits de crabe (scylla seratta)», mémoire de DEA, Université d'Antananarivo, p5-9.

Randriamahatody Z., 2011, «Valorisation biotechnologique des co-produits de crevette : utilisation de la proteolyse enzymatique pour des applications avicoles à Madagascar», thèse de doctorat, Université d'Antananarivo, Université de Bretagne Sud, p15.

Randrianasolo O. V., 2003, Contribution aux études sur la préparation du chitosane à partir des carapaces de crevettes, mémoire d'ingéniorat, ESPA, p6-34.

Razafindrakoto H. L., 2015, «Autolyse des têtes de crevettes Penaeus indicus et qualité nutritionnelle des dérivés autolytiques», mémoire de Master II, Université d'Antananarivo, p 10.

Rinaudo M.,2006,Chitine et Chitosane, CERMAV-CNRS, Centre de recherches sur les macromolécules végétales.

S.Achour, N.Guesbaya, 2005, Coagulation-floculation par le sulfate d'aluminium de composés organiques phénoliques et de substances humiques, Laboratoire de recherche en hydraulique souterraine et de surface, Université de Biskra, Algérie, p2-6.

Salim Z., 2012, Etude de l'épuration d'effluents de composition complexe par électrocoagulation et des couplages intervenant entre le traitement électrochimique et l'étape de séparation : Application à l'industrie textile et papetière, thèse de doctorat, Université de Lorraine, p34.

Samiha H**.**, 2012, Etude de la dégradation des colorants de textile par les procédés d'oxydation avancée. Application à la dépollution des rejets industriels, thèse de doctorat, Université Paris-Est, p13-16.

Smartfish, 2014, Meilleure valorisation des crabes de mangrove à travers la réduction des pertes après capture, article, p1-4.

Smartfish, 2014, Une analyse globale de la chaîne d'approvisionnement de la pêcherie du crabe de mangrove à Madagascar, article, p8-11.

Vaosolomalala Y.V., 2014, Contribution à la valorisation des co-produits de crevette dans le traitement des eaux par adsorption du plomb et du phosphate, essai de coagulation-floculation, [DEA], Université d'Antananarivo.

Vladmir A. et al., 2012, FTIR-An Essential characterization Technique for Polymeric Materials, Instituto Potosino de Investigacion Cientifica y Technologica A.C. (IPICYT), Division de Ciencias Ambientales Mexico,

Xu et al., 2008, Chitin purification from shrimp wastes by microbial deproteination and decalcilification, Appl Microbial Biotechnol, 79 (4): 687-697

Yann Y. et al., 2014, Accroître les performances de la chaîne de valeur du crabe de mangrove à Madagascar, Programme Smartfish.

Zbigniew K et al., 2014, Meilleure valorisation des crabes de mangroves à travers la réduction des pertes après capture, Manuel technique, Programme Smartfish, FAO Smartfish publication.

Zbigniew K., 2012, Une analyse globale de la chaîne d'approvisionnement de la pêcherie du crabe de mangrove *(Scylla serrata)* à Madagascar, Programme pour la

mise en œuvre d'une stratégie de pêche pour la région Afrique orientale australe et Océan Indien, Smartfish.

Zemmouri H., 2008, Le chitosane …est-il la molécule du siècle?, p3-4.

http://archimer.ifremer.fr /doc/00087/19828

http://bandedecom.com /techniques-de-production

http://bibliomer.com

http://presses-ufc-univ-fcomte.fr

http://tel.archives-ouvertes.fr

http://www.ifremer.fr/docelec

www.erudit.org

www.fao.org >Accueil FAO>Pêches et aquaculture

www.imprimerie-exception.com /encres-gra…

www.inrs.fr /…/ed6069.pdf

www.server.idemdito.org>Root>Serveurs>Electromenager>Ordinateurs>Imprimants

www.smartfish-coi.org

ANNEXES

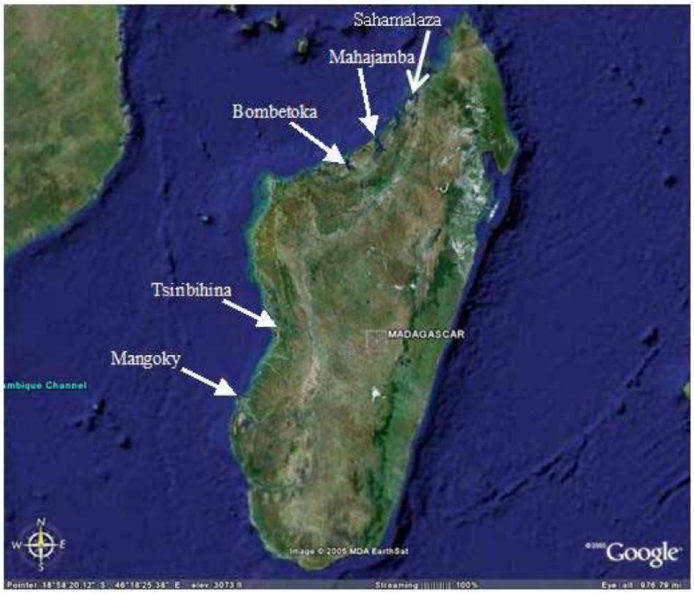
Annexe 1: Localisation principals zones de production de crabs à Madagascar

Localisation des principales zones de production de crabes à Madagascar

A Madagascar, les zones de production de crabes sont constituées principalement par (Smartfish, 2014):

- la région de Boina (autour de Mahajanga), qui tient la première place ;
- la région de Menabe (autour de Morondava), en deuxième position ;
- la région de Sofia complexe de mangroves de Sahamalaza (autour de Maromandia).

A celles-ci s'ajoutent les zones de production secondaires : Baie d'Ambaro, Maintirano, Besalampy, Farafangana...Dans le cas de la région de Boina, il s'agit des deux baies de Mahajamba et de Bambetoka, pour la région de Menabe, on analyse la pêche effectuée dans les deltas de Tsiribina et de Mangaoky et enfin, pour ce qui est de la région Sofia, on suit les captures dans le grand complexe de mangroves de Sahamalaza. Leur localisation est présentée dans la figure suivante :



Localisation des zones d'›étude du crabe Scylla serrata à Madagascar.

La production provenant des régions Boina et Menabe est achetée, avant tout, par les sociétés d'exportation localisées à Mahajanga, Morondava et Antananarivo. Une partie est destinée à la consommation locale dans les grandes villes des Hautes

Plateaux. Par contre, les crabes de Sahamalaza, ont été transportés, jusqu'en 2010, uniquement vers Nosy Be (hôtels/restaurants) et Ambanja (marché). C'est seulement depuis un an qu'une partie des prises de cette zone est évacuée vers les sociétés d'exportation situées à Mahajanga et Antananarivo (www.smartfish-coi.org).

Méthodes de pêche aux crabes

L'intervention des sociétés industrielles se situe uniquement au niveau de la collecte. La pêche aux crabes est effectués à pied ou avec des petites pirogues non motorisées, en utilisant des techniques de pêche très simples et peu coûteuses (Smartfish, 2014).

- Pêche à l'aide de barrages côtiers: en fait ils sont destinés à capturer des poissons et des crevettes et ne prennent qu'accidentellement des crabes.
- Pêche à la "raquette" ou pêche au filet : ces "raquettes" sont constituées par un morceau de filet tendu sur une branche recourbée. Le pêcheur marche le long du rivage, l'eau lui arrivant au plus jusqu'aux genoux. Lorsqu'il voit un crabe, il l'enlave prestement hors de l'eau avec sa "raquette" (LE RESTE, 1976).
- Pêche au "trou" : c'est la méthode la plus utilisée. Les terriers sont souvent pérennes, les nouveaux occupants se contentant de les entretenir.

Souvent de nombreux trous sont vides, le recrutement ayant été insuffisant. Les crabes sont capturés à l'aide d'une branche terminée en crochet. Pendant les 3 à 4 heures que durait la marée du pêcheur, il capturait 15 à 20 crabes, soit une dizaine de kg (www.fao.org).

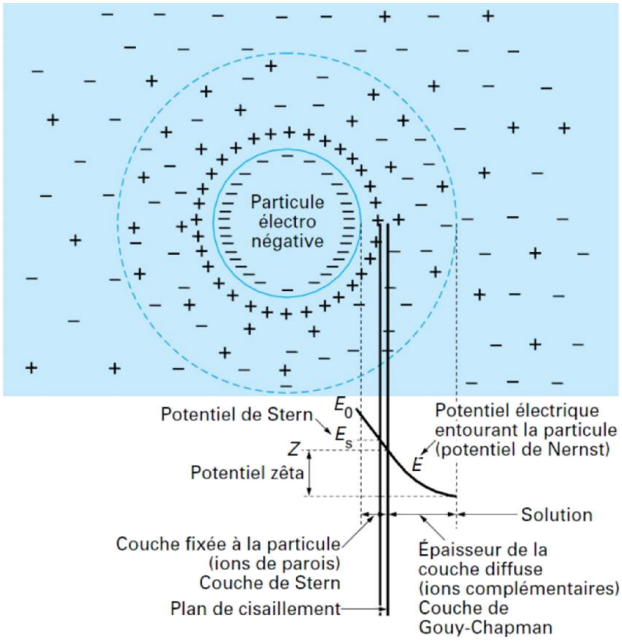
Annexe 2: Norme Malagasy sur les rejets des rejets d'effluents liquides

Selon l'article 5 du Décret n° 2003/464 du 15/04/03 : Afin de préserver les ressources en eau (objectifs de qualité), les rejets d'eaux usées doivent être incolores, inodores et respecter la qualité suivante:

Paramètres	Unité	Normes
FACTEURS ORGANOLEPTIQUES ET PHYSIQUES		
Ph		6,0-9,0
Conductivité	µs/cm	200
Matières en suspension	mg/l	60
Température	°C	30
Couleur	Echelle Pt/Co	20
Turbidité	NTU	25
FACTEURS CHIMIQUES		
Dureté totale comme CaCO3	mg/l	180,0
Azote ammoniacal	mg/l	15,0
Nitrates	mg/l	20,0
Nitrites	mg/l	0,2
NTK (azote total Kjeldahl)	mg/l - N	20,0
Phosphates comme PO_4^{3-}	mg/l	10,0
Sulfates comme SO_4^{2-}	mg/l	250
Sulfures comme S^{2-}	mg/l	1,0
Huiles et graisses	mg/l	10,0
Phénols et crésols	mg/l	1,0
Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)	mg/l	1,0
Agents de surface (ioniques ou non)	mg/l	20
Chlore libre	mg/l	1,0
Chlorures	mg/	250
FACTEURS BIOLOGIQUES		
Demande chimique en oxygène (DCO)	mg/l	150
Demande biochimique en oxygène (DBO5	mg/l	50
FACTEURS INDESIRABLES		
METAUX		
Aluminium	mg/l	5,0
Arsenic	mg/l	0,5
Cadmium	mg/l	0,02
Chrome hexavalent	mg/l	0,2
Chrome total	mg/l	2,0
Fer	mg/l	10,0
Nickel	mg/l	2,0
Plomb	mg/l	0,2
Etain	mg/l	10,0
Zinc	mg/l	0,5
Manganèse	mg/l	5,0
Mercure	mg/l	0,005
Sélénium	mg/l	0,02

Annexe 3 : Equilibres des systèmes colloïdaux

Les colloïdes sont des particules qui ne décantent pas naturellement de taille entre 2 nanomètre et 2 µm. Les colloïdes sont soumis à des forces d'attraction (de Van der Waals) et à des forces de répulsion électrostatique. Ils sont généralement chargés négativement à pH > 3-4. Afin de neutraliser cette charge négative de surface, des ions positifs présents dans l'eau brute (ou éventuellement ajoutés) sont attirés et forment une couche autour du colloïde. Lorsque la surface du solide, chargée électriquement se trouve au contact d'une solution aqueuse d'électrolytes, les ions de cette solution sont affectés par un champ de forces électrostatiques : les ions chargés de même signe que la paroi du solide sont repoussés par celle-ci, les autres étant attirés. Il va finalement s'établir une distribution spatiale constituant une double couche ionique à l'interface solide-liquide. Elle est assimilable à un condensateur moléculaire dont une partie est une armature formée d'ions adhérant fortement à la paroi (partie fixe), tandis que l'autre partie constituée d'un nuage d'ions diffus est mobile (couche diffuse). Le concept de la double couche ionique a permis d'exprimer dans la pratique l'importance des forces répulsives de nature électrostatique par la mesure du potentiel électrocinétique de Freundlich ou potentiel zêta, qui renseigne sur la charge électrique superficielle des colloïdes.



Distribution ionique autour d'une particule colloïdale électronégative (d'après Godart 2000).

Les particules peuvent alors se rassembler sous l'effet des forces attractives de Van der Waals et il se produit une précipitation simultanée et conjointe, sous forme d'un gel d'hydroxyde de certains ions multivalent, qui adsorbe le colloïde naturel coagulé. Ce gel amorphe se présente sous la forme de flocons que l'on va ensuite s'efforcer de faire grossir progressivement (floculation) pour le séparer efficacement de l'eau dans les phases ultérieures de décantation. L'ensemble de ces flocons est appelé le floc. La coagulation est optimale pour une introduction de charges électriques positives correspondant à l'annulation du potentiel zêta, potentiel que l'on mesure en observant la vitesse de déplacement des particules colloïdales sous l'action d'un champ électrique dans un appareil d'électrophorèse dit zêta-mètre. Le potentiel zêta s'annule ou avoisine le zéro avec la neutralisation de toutes les charges avoisinantes, ainsi il faudra que le coagulant se disperse dans l'eau pour obtenir une répartition homogène avant toute précipitation d'hydroxyde. Cela demande une forte agitation en un temps court ou, en d'autres termes, utiliser un gradient de vitesse très élevé. Ainsi, pour être efficace, la coagulation demande une dispersion immédiate du coagulant dans l'eau, afin que les charges électriques des particules colloïdales soient déchargées uniformément ; à cet effet, on utilise soit des mélangeurs statiques mis en place à l'intérieur d'une tuyauterie (système hélicoïdal, diaphragme, cône...) qui créent une turbulence suffisante pour permettre la diffusion instantanée du coagulant, soit des mélangeurs rapides qui comportent un agitateur. L'efficacité du traitement dépend du pH.

Le pH optimal constitue un compromis entre le pH nécessaire à la coagulation des colloïdes (leur nature et leur point isoélectrique) et le pH nécessaire à la floculation (correspondant au minimum de solubilité du métal). Par exemple, le pH optimal de coagulation-floculation est compris entre 6 et 7,4 pour l'aluminium et est supérieur à 5 pour le fer. La quantité de coagulants à ajouter peut être optimisée par une étude du potentiel zêta, le traitement idéal correspondant à un potentiel zêta de zéro. Pour rendre le traitement plus efficace, certains adjuvants tels que des polysaccharides contribuant à former des flocs résistants de plus grand diamètre sont utilisés.

(SALIM ZODI, 2012)

Annexe 4: Bandes des photos

Broyage de la chitine

Solution de chitosane prêt à employer

Filtre Whatman GF/C 47 mm

Sable de minéralisation

Rotavap

Un pH-mètre

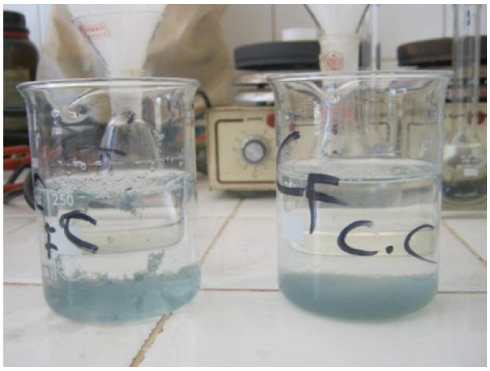
Un conductimètre

Un turbidimètre

Une balance de précision

Une étuve

Traitement avec le chitosane



Décantation des flocs

a

b

Bassin de traitement de l'imprimerie luthérienne (a) et déversement de ses eaux usées (b)

HERINARIVO Arnaudine Françoise

Email : lapetitefranche@gmail.com /Tél : 034 70 214 84

Titre : Production de chitine et de chitosane à partir des déchets de crabes de mangroves *(Scylla serrata)* par voie chimique : application au traitement d'eaux usées d'imprimerie

RESUME

Le présent travail a pour but principal de valoriser les déchets de crabes de mangroves (*Scylla serrata*). Cette étude porte sur l'extraction de la chitine et l'obtention du chitosane à partir des déchets de crabes et sur la caractérisation physico-chimique du chitosane obtenu. La récupération par voie chimique de la chitine et du chitosane nécessite trois étapes :
-la déminéralisation : élimination des matières minérales dans les matières premières ;
-la déprotéinisation : dégradation des protéines les déchets de crabes et ;
-la désacétylation chimique : substitution des groupements acétyles dans la chitine pour aboutir en chitosane.

Le spectre UV du chitosane montre une bande caractéristique du chitosane à 238 nm. Les spectres FTIR de la chitine et du chitosane présentent des bandes absorbant entre 3400 et 3500 cm^{-1}, correspondant aux vibrations d'élongation de N-H et O-H ainsi que des bandes à 1560 et 1660 cm^{-1}, correspondant aux vibrations d'élongations de l'amide I et de l'amide II. On remarque une absence des bandes à 3271 et 3110 cm^{-1}. Le degré de déminéralisation (DM) est égal à 99%. Les analyses physico-chimiques révèlent que le degré de désacétylation (DDA) du chitosane est de 66%, et 71% pour le chitosane commercial. Le degré d'acétylation (DA) de la chitine est égal à 66%.

Le chitosane a été utilisé comme agent de coagulation-floculation lors de l'essai de traitement d'eaux usées d'imprimerie. Les analyses des paramètres organoleptiques et physiques avant et après traitement ont permis d'évaluer l'efficacité du traitement avec le chitosane. Le chitosane obtenu ainsi que le chitosane commercial élimine jusqu'à 99% les couleurs et la turbidité des eaux usées.

Mots clés: Chitine, Chitosane, Crabes, Colorant, Coagulation-Floculation,

ABSTRACT

This work has as main objective the recycling of mangrove crab (*Scylla serrata*) waste. This study covers the extraction of chitin and chitosan obtained from waste of crabs and the physicochemical characterization of the obtained chitosan. Recovering chemically chitin and chitosan requires three steps:
-demineralization: eliminating the most abundant minerals in raw materials;
-deproteinization: causing the degradation of proteins using a diluted sodium hydroxide solution under the effect of heat has and;
-chemical deacetylation: substituting the acetyl groups in chitin to lead to chitosan.

The UV spectrum of chitosan shows a characteristic band at 238 nm. The FTIR spectra of chitin and chitosan have absorbent bands between 3400 and 3500 cm^{-1} , corresponding to the vibrations of N-H and O-H elongations, as well as bands 1560 and 1660 cm^{-1}, corresponding to the elongation vibrations of amide I and amide II. An absence of the bands at 3271 and 3110 cm^{-1} is observed in the chitosane spectrum. The degree of mineralization (DM) is 99%. The physicochemical analyzes reveal that the degree of deacetylation (DDA) of chitosan is 66%, and 71% for commercial chitosan. The degree of acetylation (DA) of the chitin is 66%.

Chitosan was used as a coagulation-flocculation agent to treat wastewater from printing. Analyses of organoleptic and physical parameters before and after treatment were used to assess the efficicacy with chitosan. Both chitosan obtained and chitosan commercially available eliminate up to 99% of colorants and wastewater turbidity.

Keywords: Chitin, Chitosan, Crab, Colorant, Coagulation-Flocculation,

Rapporteurs : Dr MONG Yves Jean Michel, Mr RAJOELISOA Lala