

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
**UNIVERSITÉ de BLIDA 1**  
**Faculté de Technologie**  
**Département de Génie des Procédés**



# Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

**MASTER EN GENIE DES PROCEDES**

**Spécialité : Génie des Procédés des Matériaux**

Intitulé du mémoire

**Valorisation des propriétés photosensibilisantes de la phycocyanine  
dans la photodégradation des polluants organiques**

Présenté par :

Yazid Meriem Nerdjass Aldjia

Ouchen Bilal

Encadré par :

Mr. B.Cheknane

Mme. Z.Zeffouni

Année universitaire 2020/2021

## REMERCIEMENTS

Avant tout, nous remercions Dieu le Tout Puissant de nous avoir donné la force, le courage, la volonté, l'amour du savoir et surtout la patience pour pouvoir produire ce modeste travail.

Ce travail a été effectué au Laboratoire **de Chimie Physique des Interfaces des Matériaux Appliqués à L'Environnement de l'Université Saad Dahleb de Blida**. Nous remercions énormément **Mme. F.ZERMANE**, notre responsable de l'option génie des procédés des matériaux et aussi directrice du laboratoire, pour son accueil et l'intérêt qu'il a accordé à ce travail, et pour leur disponibilité et ses encouragements.

Nos remerciements vont spécialement à nos encadreurs, **Pr B.CHEKNANE** et aussi Co-encadreur **Dr. Z.ZEFFOUNI** pour leurs soutiens, ses compétences et leurs précieux conseils durant toute la période de notre projet de fin d'étude.

Nous tenons à remercier également, la présidente de jury et les membres du jury pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de juger et d'évaluer notre travail.

Finalement, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à nos familles et surtout nos parents qui nous ont toujours soutenues encouragée, supportée durant ces longues années d'études. Et à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail. Ainsi que l'ensemble des enseignants de Génie des Procédés qui ont contribué à notre formation.

# *Dédicace :*

C'est avec un grand plaisir que je dédie ce modeste travail en guise de respect et  
reconnaisances à :

Mes Très Chers Parents : **NADIA** et **KAMEL**

En témoignage et en gratitude de leurs dévouements et leurs soutiens permanents durant  
toutes mes années d'études, leurs sacrifices, leurs réconforts moraux et leurs amours et  
tous les efforts qu'ils ont consentis pour mon éducation et mon instruction pour me voir  
réussir un jour...que Dieu les protège.

Les membres de la famille : mes chères sœurs **Yasmine** et **Karima** et mon petit cher frère  
**Mohamed.**

A mes beaux-frères et mon adorable neveu **Haroun**

Et bien sûr à toute ma famille sans exception...

A mon cher **Mohamed Anes** qui était présent dans tous les moments par son soutien moral  
et son encouragement, je vous remercie d'être toujours à mes côtés

A tous mes amis (es) de promotion surtout Razika, Aymene, Med Amine avec qui j'ai  
partagé les plus beaux moments

A mon binôme **Bilal** et sa famille

A tous les enseignants de génie des procédés

Mes sincères gratitudees à **Mme Zermane Faiza** pour la qualité de son enseignement, ses  
conseils et son intérêt incontestable qu'il porte à tous les étudiants.

A tous ceux qui, par un mot m'ont donnée la force de continuer...

*YAZID MERIEM NERDJASS ALDJIA*

# *Dédicace*

J'ai le grand honneur de dédier ce modeste travail :

A ceux qui m'ont encouragé et soutenue moralement et matériellement pendant les moments les plus difficiles et durant toute ma vie.

A **mon très cher père** et **ma très chère mère** qui m'ont donné la possibilité d'arriver là où je suis.

A Mes chers **Frères** et **sœurs** .Je vous souhaite la réussite dans votre vie, avec tout le bonheur qu'il faut pour vous combler.

A **ma famille** que j'aime beaucoup et **mes amis** (es).

A ma chère amie et binôme **NERDJASS**, avec laquelle j'ai partagé ce travail.

*OUCHËN BILAL*

## ملخص

هدفنا من هذا العمل تثبيت المحسس الضوئي فيكوسيانين على شيتوزان مستخلص من بقايا الجمبري للحصول على أغشية قابلة لتحلل الضوئي  
تم فحص الأغشية المتحصل عليها بعدة طرق (الاشعة فوق البنفسجية -فوق الحمراء -الذوبان-حيود الاشعة السينية)  
تظهر النتائج أن أغشية مستقرة ميكانيكيا.  
إن عملية التحلل الضوئي على أغشية مع الملون إينوني مثل البرتقالي يبين أن مردود التحلل هو 32% مع وقت معالجة يصل إلى 180 دقيقة  
**الكلمات المفتاحية:** محسسات ضوئية -فيكوسيانين -شيتوزان -تحلل ضوئي

## Abstract

The objective of this work is the elaboration of films based on chitosan, on which we have scratched a photosensitizer. The films obtained were characterized using several characterization methods (DRX, FTIR, solubility, etc.).

The characterization results obtained generally show that the films obtained are mechanically stable. The application of these films in the photodegradation of an anionic dye Methyl Orange shows removal yields of around 32% with a treatment time of 180 min.

**Keywords :** photosensitizers - phycocyanin - chitosan - photodegradation

## Résumé

L'objectif de notre travail est l'élaboration des films à base de chitosane, sur lequel nous avons gratté un photosensibilisateur. Les films obtenus ont été caractérisés en utilisant plusieurs méthodes de caractérisations (DRX, FTIR, solubilité...).

Les résultats de caractérisations obtenus montrent d'une manière générale que les films obtenus sont stables mécaniquement. L'application de ces films dans la photodégradation d'un colorant anionique Méthyle Orange montre des rendements d'élimination de l'ordre de 32% avec un temps de traitements 180 min.

**Les mots clés :** Photosensibilisateurs - phycocyanine - le chitosane – photodégradation.

## La liste des figures

Figure I.1 : Schéma de la structure d'une cyanobactérie.....	2
Figure I.2 : Formule de la phycocyanine.....	8
Figure I.3 : Schéma des biopolymères biodégradables d'origine naturels.....	12
Figure I.4 : Structure chimique de la chitine (a) du chitosane (b).....	13
Figure I.5 : Principales étapes d'extraction de la chitine et sa transformation en chitosane.....	18
Figure I.6 : la synthèse de N-succinyl chitosane C phycocyanine peptide (NSC CPC).....	20
Figure II.1 : les étapes de l'extraction du chitosane des exosquelettes de crevettes.....	23
Figure II.2 : l'opération de prétraitement des carapaces de crevette.....	24
Figure II.3 : (a) l'étape de déminéralisation (sous l'agitation) (b) l'étape de déprotéinisation à l'aide d'un montage à reflux.....	25
Figure II.4 : la filtration avec une pompe sous vide.....	25
Figure II.5 : le biopolymère chitosane synthétisé.....	26
Figure II.6 : la spiruline sous forme poudre verte.....	26
Figure II.7 : les différentes étapes d'extraction de la phycocyanine.....	28
Figure II.8 : les étapes de greffer le chitosane sur la phycocyanine.....	30
Figure II.9 : la phycocyanine d'adsorbée par le chitosane.....	31
Figure II.10 : l'étape de la photodegradation.....	31
Figure II.11 : Préparation de l'échantillon en pastille de Kbr.....	32
Figure III.1 : Diffractogramme de chitosane extrait.....	35
Figure III.2 : Spectre IR de chitosane.....	36
Figure III.3 : Spectre UV Visible du phycocyanine.....	37
Figure III.4 : diffractomètre de film (NSC PC).....	38
Figure III.5 : Spectre IR de film (NSC – C-PC).....	39
Figure III.6 : la formule des interactions entre chitosane et phycocyanine $\text{COOH} \cdots \text{NH}_2$ .....	39
Figure III.7 : les différents matériaux obtenus.....	40
Figure III.8 : Le rendement en fonction du temps pour la solution de 1%.....	41
Figure III.9 : le rendement en fonction de temps pour le film.....	42

## La liste des tableaux

Tableau I.1 : composition en acides aminés de spiruline platensis.....	4
Tableau I.2 : teneur moyenne et principales fonctions des minéraux et des oligoéléments de la spiruline.....	5
Tableau I.3 : propriétés spectrales de la C-PC.....	8
Tableau I.4 : variation de la solubilité du chitosane en fonction du DDA à pH=6.....	15
Tableau I.5 : propriétés et domaines d'applications de chitosane.....	18
Tableau II.1 : les solutions et les produits utilisés dans l'étude.....	22
Tableau III.1 : Résultats de test de solubilité de chitosane synthétisé.....	34
Tableau III.2 : Résultats caractéristiques de la phycocyanine extrait.....	37
Tableau III.3 : Les résultats de la cinétique de la photodégradation par la poudre.....	40
Tableau III.4 : Les résultats de la cinétique de la photodégradation par le film.....	41

## La liste des abréviations

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique

**ARN** : Acide Ribonucléique

**ATP** : Adénosine-Triphosphate

**C-PC** : Phycocyanine isolée d'une Cyanobactérie

**DA** : Degré d'acétylation

**DDA** : Degré de désacétylation

**DRX** : diffraction des rayons X

**FTIR** : spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

**KDa** : Unité de masse atomique unifiée

**M** : molarité

**MM** : la masse molaire

**MO** : le méthyle Orange

**NADPH** : nicotinamide adénine di-nucléotide phosphate

**NSC** : N-succinyl chitosane

**PDT** : thérapie photodynamique des tumeurs

**pH** : le potentiel 'hydrogène

**(p / v)** : le poids / le volume

**ROS** : Reactive oxygen species (les espèces réactive de l'oxygène)

**T** : la température

**tr/min** : tour par minute

**UV** : ultra-violet

**°C** : degré Celsius

**µg** : microgramme, unité de mesure de masse du Système international (SI)

## Table des matières

**Remerciement**

**Dédicaces**

**Résumé**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Liste des Abréviations**

**Introduction générale**

**Chapitre I : Synthèse bibliographique.**

**Partie I : Généralités sur la spiruline platensis .....1**

I.1 Historique.....1

I.2 Définition des cyanobactéries.....1

I.3 La culture.....2

I.3.1 Condition de la culture.....2

I.4 La composition chimique de la spiruline.....3

I.4.1 Les Glucides.....3

I.4.2 Les Protéines.....4

I.4.3 Les Lipides.....4

I.4.4 Les Vitamines.....4

I.4.5 Les Minéraux et oligoéléments.....5

**Partie II : la phycocyanine .....8**

II.1 Définition de la phycocyanine.....8

II.2 Les propriétés physiques et chimiques de la phycocyanine.....8

II.2.1 Propriétés spectrales.....8

II.2.2 Propriétés thérapeutiques de phycocyanine.....9

II.3 Les méthodes d'extraction.....9

II.3.1 Extraction par sonification.....9

II.3.2 Extraction par congélation.....9

II.3.3 Extraction par solvant.....10

II.3.4 Extraction par séparation aqueuse à double phase .....10

II.3.5 Extraction par le glycérol.....10

II.3.6 Extraction par l'eau.....10

II.4 Application de la phycocyanine.....	10
II.4.1 Additifs alimentaires.....	10
II.4.2 Produits pharmaceutique.....	10
II.4.3 Application dans la thérapie photodynamique la PDT.....	11
<b>Partie III : Mise en forme de la phycocyanine pour une application dans la photodégradation.....</b>	<b>12</b>
III.1 Les biopolymères.....	12
III.2 Définition du chitosane.....	13
III.3 La source.....	13
III.4 La structure.....	13
III.5 Les propriétés physico-chimiques.....	14
III.5.1 Degré de désacétylation (DDA).....	14
III.5.2 Le poids moléculaire.....	14
III.5.3 La viscosité.....	14
III.5.4 La solubilité.....	15
III.5.5 La cristallinité.....	15
III.6 Propriétés antioxydants.....	16
III.7 Le procédé d'extraction du chitosane à partir la chitine.....	16
III.7.1 Déminéralisation.....	16
III.7.2 Déprotéinisation.....	16
III.7.3 Décoloration.....	17
III.7.4 Désacétylation.....	17
III.8 Les applications de chitosane.....	18
III.9 La mise en forme de matériau.....	20
III.9.1Greffage de la phycocyanine sur le chitosane.....	20
III.9.2 Phénomène d'adsorption.....	20
III.9.3La Photodégradation.....	21
<b>Chapitre II : Matériels et Méthodes.....</b>	<b>22</b>
II.1 Matériels et méthodes.....	22
II.1.2Solutions et produits.....	22
II.2 Mode opératoire.....	22
II.2.1 Préparation du matériel d'étude.....	23
II.2.2 L'extraction de chitosane.....	24

II.3 L'extraction de la phycocyanine.....	26
II.3.1 Matériel biologique.....	26
II.3.2 les étapes de l'extraction de la phycocyanine.....	27
II.3.2.1 Préparation de solution tampon phosphaté.....	27
II.3.2.2 l'extraction de la phycocyanine par l'ultrason.....	27
II.3.2.3 Centrifugation.....	27
II.4 Elaboration d'un matériau biopolymère.....	29
a. Réaction d'estérification.....	29
b. Définition de l'adsorption.....	29
II.4.1 Film par réaction d'estérification.....	29
II.4.2 Poudre par l'adsorption.....	30
II.5 Application des films et des poudres dans la photodégradation.....	31
II.6 Méthodes de caractérisation de chitosane.....	32
II.6.1 Caractérisation physique et chimique de chitosane synthétisé .....	32
A. Test de solubilité.....	32
B. Caractérisation du chitosane synthétisé par la spectroscopie IRTF.....	32
C. Caractérisation par diffraction par les rayons X (DRX).....	33
 <b>Chapitre III : Résultats et discussions</b>	
III.1. Extraction et caractérisation du chitosane.....	34
III.1.1 L'extraction de la chitine.....	34
III.1.2. L'extraction du chitosane.....	34
III.1.3 Caractérisation physico-chimiques de chitosane.....	34
III.1.3.1 Résultats de test de solubilité .....	34
III.1.3.2 Détermination du degré de désacétylation par spectroscopie FTIR .....	35
III.1.3.3 Caractérisation du chitosane par diffraction de rayons-X DRX .....	35
III.1.3.4 Caractérisation du chitosane par la spectroscopie infrarouge FTIR.....	36
III.2 L'extraction de la phycocyanine.....	37
III.3 Caractérisation de film et de a poudre chitosane/phycocyanine .....	38
III.3.1 Résultats d'analyses de film par diffraction de rayons-X DRX.....	38
III.3.2 Analyse du film par spectroscopie infrarouge couplé à l'ATR (FTIR-ATR).....	38
III.3.3 Etude de l'adsorption de la phycocyanine sur la poudre.....	40
III.4 Application du film et de la poudre dans la photodégradation du méthyle orange....	40
III.4.1 Tests de la photodégradation sur la poudre.....	40

III.4.2 Tests de la photodégradation sur le film.....	41
<b>Conclusion Générale .....</b>	<b>43</b>
<b>Références bibliographiques</b>	

## Introduction Générale

Certaines plantes utilisées dans la pharmacopée traditionnelle pour soigner les infections microbiennes et parasitaires sont capables de générer l'oxygène singulet. Celui-ci est mis à profit pour désinfecter l'eau [1].

Les photosensibilisateurs sont en fait des molécules endogènes ou exogènes qui sont capables d'absorber la lumière pour produire une réaction chimique qui n'aurait pas eu lieu en leur absence. En présence de la lumière solaire, les photosensibilisateurs absorbent de l'énergie qu'ils transfèrent à l'oxygène moléculaire stable (état triple) pour générer l'oxygène singulet [1].

Le choix du photosensibilisateur est d'une importance capitale pour permettre une photosensibilisation efficace [2].

La phycocyanine est une protéine hydrosoluble extraite à partir des cyanobactéries (algues bleue vertes), elle est dotée de propriétés anti-oxydantes et fluorescentes qui lui permettent d'avoir des applications pharmaceutiques et médicales [3].

Afin d'atteindre ces objectifs, nous nous sommes subdivisé notre travail en trois parties.

La première partie est consacrée à l'état de l'art, des recherches bibliographiques sur les cyanobactéries et la phycocyanine extrait de la spiruline cultivée à Oran. Et aussi sur les biopolymères la chitine et le chitosane.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés, dans un premier temps à l'extraction des polysaccharides la chitine et le chitosane à partir des carapaces des crevettes par trois méthodes la déminéralisation et la déprotéinisation, la désacétylation avec un degré de désacétylation de 81.39%.

Nous avons traité aussi l'extraction de la phycocyanine à partir des cyanobactéries (la spiruline platensis), l'extraction a été réalisée par l'ultrason.

Nous avons étudié l'élaboration d'un biomatériau qui est le chitosane sur lequel nous avons greffée la phycocyanine sur le chitosane.

Le produit ainsi obtenu a été utilisé dans le domaine de traiter des effluents industriel par photodégradation.

Ce chapitre est finalisé par les analyses physico-chimiques (DRX- FTIR- UV...)

La troisième partie est destinée à la présentation de tous les résultats obtenus ainsi qu'à leurs discussions.

# Chapitre I

## Synthèse bibliographiques

## **I. Généralité sur la spiruline platensis**

### **I.1 Historique**

La spiruline est une cyanobactérie spiralée de couleur bleu-vert photo-autotrophe. C'est un organisme procaryote qui partage avec les plantes la capacité d'effectuer de la photosynthèse. À partir de composés minéraux, d'eau, et de l'énergie lumineuse captée grâce à leur chlorophylle, elles transforment le gaz carbonique et dégagent l'oxygène. Il est admis par la communauté scientifique que l'apparition des cyanobactéries date de 3,5 milliards d'années, constituant ainsi les plus anciennes formes de vie sur terre. Toutefois, de récentes études, combinant des données paléo biologiques et des comparaisons phylogénétiques, datent l'apparition de ces dernières à la fin de l'archéen, il y a 2,7 milliards d'années. Ce qui fait des cyanobactéries, les plus anciennes formes de vie sur terre [4].

À la période précambrienne (2,5- 0,5 milliards d'années), les cyanobactéries ont constitué l'essentiel de la biomasse et ont alors permis un accroissement du taux d'oxygène et une diminution du taux de CO<sub>2</sub> de l'atmosphère terrestre. Un héritage vivant de cette « Ère des cyanobactéries » est constitué par les stromatolithes en Australie. Elles constituent aussi le socle de la vie dans les océans puisqu'elles sont à l'origine de la grande diversité du phytoplancton. Elles résistent aux conditions les plus extrêmes notamment grâce à leur capacité à se rétracter en un agrégat de plusieurs milliers de filaments lorsque les conditions de température ou d'hydratation leurs sont défavorables, elles conservent au centre de leurs capsules un minimum d'humidité nécessaire à leur survie dans l'attente d'une amélioration des conditions extérieures : on parle alors d'état de dormance. Elles existent toujours de nos jours et jouent un rôle dans le maintien de l'équilibre des proportions entre le gaz carbonique et l'oxygène [4].

### **I.2 Définition de spiruline**

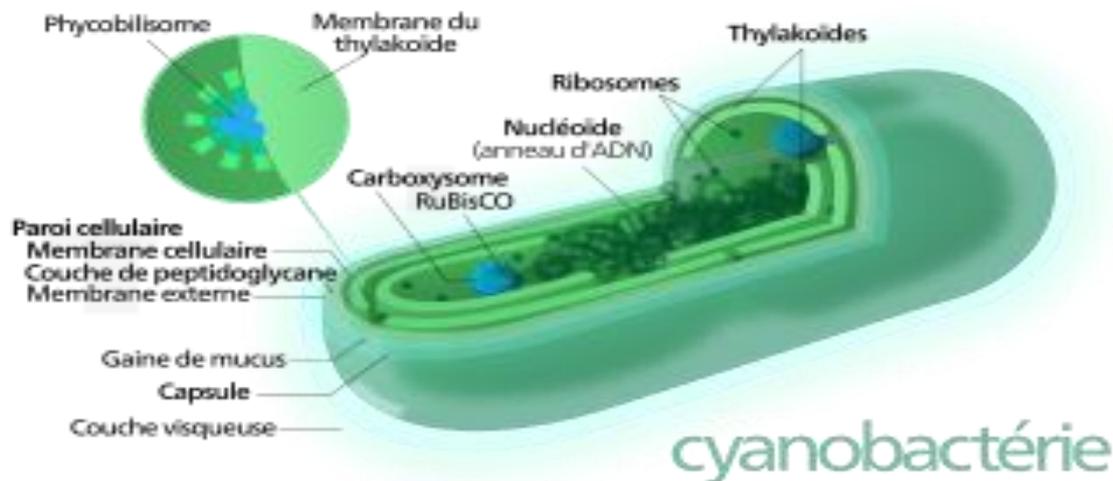
La spiruline (Cyanobactérie *Arthrospira platensis*) est une algue bleu-vert microscopique, planctonique unicellulaire, vivant en eau douce, d'aspect spiralée de 0,3 à 1 mm de long, cultivée originellement dans les lacs du Tchad (chez les Kanembous) et dans la vallée de Texcoco au Mexique (chez les Aztèques) [5].

De manière générale, cette algue est considérée comme riche en protéines (60 à 70 % de son poids avec neuf acides aminés essentiels), en acides gras essentiels (c-linoléique), en minéraux (fer, calcium, potassium, phosphore, manganèse, cuivre, zinc, magnésium...), en

oligoéléments, en vitamines (A, B1, B2, B6, B12, E, K) et contient de la chlorophylle, des fibres et un pigment bleu (la phycocyanine). Elle est consommée fraîche ou sèche et peut être présentée en poudre ou en granulés [5].

Hormis un risque allergique et un risque infectieux à la suite de sa culture ou de son stockage [6], il n'y a pas de contre-indications connues. Elle fait partie des algues de consommation autorisée. Sa conservation peut être délicate avec des risques de vieillissement ; elle doit être conservée dans des contenants à l'abri de l'humidité et de la lumière. En raison de sa culture facile, elle est utilisée dans le domaine animal comme complément protéique. En médecine humaine, elle a été proposée comme additif alimentaire ou comme nutriment à part entière dans les pays à problèmes nutritionnels.

De manière plus générale, en matière nutritionnelle tant dans les pays riches que dans les pays pauvres, cette algue fait l'objet d'un véritable « culte », dans de nombreuses publications internet (2600 sites à ce jour à partir du mot clé « spiruline ») avec des résultats réputés spectaculaires dans la malnutrition infantile, sans arguments scientifiques [7,8]. Elle a même été testée in vitro contre le virus du sida [9].



**Figure I.1** : schéma de la structure d'une cyanobactérie

### **I.3.Culture de la spiruline**

#### **I.3.1 Condition de la culture**

Il existe trois facteurs essentiels déterminants pour la culture de la spiruline La température, la lumière et le pH [10].

### **A. L'effet de la température**

Les premiers repères concernant les températures sont à peu près les mêmes que pour l'homme, 37°C : température idéale pour pousser la vitesse de croissance de la spiruline.

Au-dessus de 43°C peut mortel, en dessous, la vitesse de multiplication baisse à 20°C la croissance est pratiquement stoppée la culture doit donc se situer entre ces deux température [10].

### **B. L'effet de la lumière**

La lumière influence directement sur la croissance de la spiruline qui assurée par la photosynthèse ainsi que une forte intensité lumineuse peut conduire à la photolyse et pour l'éviter, il est convenable de vérifier deux conditions nécessaires :

- Ensemencer le bassin avec une forte concentration afin que la lumière n'attire pas à la fond de bassin, et la mesure de la concentration et apporté par de disque Secchi.
- Une agitation suffisante [10].

### **C. L'effet du pH**

Pour aboutir à une bonne croissance de la spiruline, le milieu de culture doit présenter un degré d'alcalinité situé entre 9 et 11 [10].

## **I.4 Composition chimique de spiruline**

Il est bien établi que les variations de conditions de culture provoquent facilement de forts changements dans la composition biochimique des spirulines. Cependant en moyenne, la spiruline contient en poids sec jusqu'à 70 % de protéines, 15 à 25 % de glucides, jusqu'à 11 % de lipides ainsi que des vitamines, des minéraux (principalement des oligoéléments), de la chlorophylle et des phycobiliprotéines [11].

### **I.4.1 Les Glucides**

Représentant 15 à 25 % de la matière sèche, les glucides sont constituants de la membrane de la spiruline (2). Les glucides simples (fructose, glucose et saccharose) sont en faible quantité comme le glycérol, mannitol et sorbitol. Cette faible proportion fait de la spiruline un aliment peu calorique. Deux substances glucidiques sont importantes :

- le méso-inositol phosphate, excellente source de phosphore.
- le calcium-spiruline un polysaccharide composé de rhamnose, fructose et en quantité moindre de ribose, mannose, glucose, xylose, soufre et calcium. Il a été isolé par plusieurs équipes, et fait l'objet de nombreuses recherches qui seront abordées plus loin [12].

### I.4.2 Les Protéines

Selon les souches et les conditions de culture, la quantité de protéines d'*Arthrospira platensis* varie de 55 à 70 % du poids sec [13].

**Tableau I.1** : Composition en acides aminés de *Spirulina platensis* [14].

Acide aminés	%	Acide aminés	%
Asp	0.9	Met*	0.8
Thr*	0.5	Ile*	1.3
Ser	0.6	Leu*	0.8
Glu	1	Tyr	3.3
Pro	0.3	Phe*	2.5
Gly	0.6	His	4.7
Ala	1	Lys*	1.9
Val*	1.3	Arg	2.1
Non inclus Trp* and Cys			
*Acide aminé essentiel			

Par sa composition protéique, la spiruline est un aliment très riche. Ainsi, comme l'indique le tableau ci-dessus (Tableau I.1), la spiruline contient la plupart des acides aminés et notamment tous les acides aminés essentiels constituant près de 60% du poids total des protéines.

### I.4.3 Les Lipides

Les lipides de la spiruline qui représentent environ 5 à 6 % de son poids total, ce qui en fait un aliment pas très gras, mais ce pourcentage peut atteindre 11% selon les modes d'extraction ou la souche de spiruline utilisée un équilibre optimal entre les oméga-3 et 6, garant d'une bonne santé cardiovasculaire est observé

La matière grasse présente dans la spiruline se subdivise en deux fractions : une fraction saponifiable « ou acides gras » (83%) et une fraction insaponifiable (17%) [15].

### I.4.4 Les Vitamines

La spiruline offre de nombreuses vitamines qui contribuent au bon fonctionnement de notre organisme : des vitamines du groupe B (en particulier, vitamines B1, B2 et B12) qui

participent au métabolisme énergétique et au fonctionnement du système nerveux et la  $\beta$  carotène, précurseur de la vitamine A, qui joue un rôle essentiel dans la vision, la reproduction des cellules et le fonctionnement normal du système immunitaire. La vitamine B12, la plus fortement représentée dans la spiruline, est de loin la plus difficile à obtenir dans un régime sans viande, car aucun végétal courant n'en contient (La spiruline est 4 fois plus riche que le foie cru, longtemps considérée comme meilleure source de vitamine B12) [16].

#### **I.4.5 Les Minéraux et oligoéléments**

Si les teneurs en éléments organiques des spirulines sont bien connues les données sur les éléments minéraux sont limitées. Les spirulines sont connues pour concentrer les éléments capables de former des cations. Elles concentrent donc aussi bien les oligoéléments essentiels sou nécessaires pour le corps humain que les éléments toxiques. Les minéraux et les oligoéléments présents dans la spiruline sont regroupés dans le tableau ci-dessous (tableau I. 2) [17].

**Tableau I.2** : Teneur moyenne et principales fonctions des minéraux et des oligoéléments de la Spiruline [17].

<b>Minéraux et oligoéléments</b>	<b>Teneur moyen dans 10 g de spiruline</b>	<b>Principales fonctions</b>
Calcium	130 (10% des AJR)	-Edification et renouvellement du squelette. -Rythme cardiaque, système nerveux
Phosphate	67 mg (8% des AJR)	-Masse minérale du squelette osseux. -Réactions biochimique de l'organisme.

---

Fer	7-18 mg (50 à 100 % des AJR)	-Fabrication et fonctionnement de l'hémoglobine -Constitution de myoglobine.
Zinc	0.4 mg (4% des AJR)	-Activation de plus de 200 enzymes.
Magnésium	25-50 mg (9-25 % des AJR)	-Masse minérale du squelette osseux. -Métabolisme glucidique et lipidique (muscle, cœur axe nerveux).
Potassium	100-200 mg (5-10% des AJR)	-Perméabilité des membranes. -Régulation du rythme cardiaque.
Sodium	0.09 mg	-Régulation pression osmotique.
Sélénium	0.1-2.55 mg (20- 100des AJR)	-Cofacteur des enzymes anti oxydantes. -Stimulant de l'immunité.

---

---

Cuivre	0.1 mg (5%des AJR)	Cofacteur de nombreuses enzymes. -Anti inflammatoire, antioxydant.
Manganèse	0.4 mg (12% des AJR)	-Formation des os et des enzymes. - Métabolisme protéines, lipides, glucides. -Stabilise taux de glucose sanguin.
Chrome	0.03-0.25 mg (16% des AJR)	-Métabolisme glucides, lipides, acides nucléique, cholestérol.

---

Les minéraux spécialement intéressants chez la spiruline sont le fer, le zinc, le magnésium, le calcium, le phosphore et le potassium. La biodisponibilité élevée du fer a été démontrée chez l'homme. Quelques récentes travaux démontrent que le fer de la spiruline est mieux absorbé que celui de la viande, ce qui est exceptionnel pour un fer non-héminique. Selon les mêmes travaux, le taux de formation de ferritine après digestion de spiruline serait plus de six fois plus élevé que dans le cas d'une même quantité de fer apporté par digestion de viande. Alors que l'apport intentionnel de zinc de la spiruline cultivée n'en contient généralement que des traces (21-40 µg/g), alors qu'on peut en trouver dans certaines spirulines naturelles près de 400 µg/g Ces valeurs sont insuffisantes pour que ces spirulines puissent être considérées comme de bonne source de zinc. D'autre part, la spiruline peut être considérée comme une excellente source alimentaire de magnésium : elle en est naturellement riche, entre autres par sa teneur en chlorophylle, et ce magnésium a été démontré bio- disponible pour l'homme [18].

## I. phycocyanine

### II.1 Définition de phycocyanine

La phycocyanine est le principal pigment de la spiruline (10 à 20% du poids sec). Il se représente sous forme d'extrait liquide, il est un des rares colorants alimentaires naturels de couleur bleue. Il est vendu sous le nom de (linabule ou sérum bleu). Il est constitué d'une structure protéique reliée à un chromophore : molécule de phycocyanobiline constituée du groupe bilin. Ce dernier est constitué du noyau tétra-pyrrolique de la chlorophylle ouvert et sans magnésium [19].

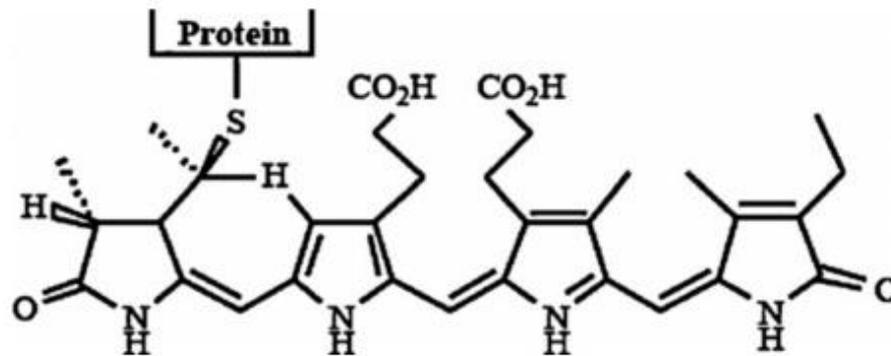


Figure I.2 : Formule de la phycocyanine.

### II.2 Propriétés physico-chimiques de la Phycocyanine

La phycocyanine est le pigment le plus abondant de la spiruline représentant plus de 15 % de son poids [20].

#### II.2.1 Propriétés spectrales

Les principales propriétés spectrales de la phycocyanine sont illustrées dans le tableau I.3 [21,22].

Tableau I.3 : Propriétés spectrales de C-PC [21,22].

Pigment	Absorbance maximale (nm)	Emission de Fluorescence (nm)	Masse moléculaire (KDa)	Absorptivité (L/g.cm)	Absorbance de Fluorescence
C-PC	615	647	220	7.0	0.15

Le spectre d'absorption de la phycocyanine montre une bande d'absorption forte à 615 nm et une seconde plus faible à 360 nm, ces deux bandes sont dues aux propriétés du chromophore biline.

### **a) Stabilité de C-PC**

La température et le pH jouent un rôle important dans la stabilité de phycoyanine, des travaux ont montré une stabilité maximale de la phycoyanine avec un pH qui varie de 5.5 à 6 et une température d'incubation entre 47 et 64 C° qui permet d'augmenter la demi vie de la phycoyanine en solution [23].

## **II.2.2 Propriétés thérapeutiques de phycoyanine**

### **a) Anti- inflammatoire**

L'effet anti-inflammatoire de *S. platensis* a été prouvé pour la première fois par [24]. Les recherches qui ont récemment rapporté les effets anti-inflammatoires du C-PC. Un rapport a montré que l'effet anti-inflammatoire du C-PC dépendait de la dose et qu'il pouvait réduire l'œdème tissulaire inflammatoire dans 12 types de cellules inflammatoires dans un modèle expérimental [25,26].

### **b) Effet hépato-protecteur**

L'activité pharmacologique du C-PC sur la toxicité hépatique chez le rat causée par la R(+)-pulegone et le tétrachlorure de carbone a été étudiée, indiquant que le C-PC peut réduire considérablement la toxicité hépatique causée par un grand nombre de radicaux libres [27].

### **c) Effet Reno-protecteur**

C-PC peut inhiber les activités des enzymes antioxydants dans le rein. C-PC fournit une protection significative contre la perméabilité de la membrane mitochondriale et augmente la production d'ATP. En outre, C-PC peut prévenir l'apparition de la néphropathie diabétique en inhibant la production de superoxyde NADPH dépendante dans les cellules mésangiales rénales en culture [28].

## **II.3 Méthodes d'extraction de phycoyanine**

### **II.3.1 Extraction par sonification**

Depuis quelques années, les ultrasons font partie de l'arsenal des méthodes mises en œuvre pour isoler les sporomorphes des roches sédimentaires, dissocier les agrégats de fins débris insolubles ou prévenir leurs dénaturations [29].

### **II.3.2 Extraction par congélation**

On appelle congélation toute technique visant à faire passer un produit de l'état liquide à l'état solide par des techniques de refroidissement forcé. On parle de congélation principalement pour l'eau et les produits qui en contiennent. La congélation est une technique de conservation des produits biologiques [30].

### **II.3.3 Extraction par solvant**

L'extraction par solvant peut être utilisée lorsque l'on souhaite extraire une espèce chimique d'une solution où elle est dissoute et pour extraire une espèce chimique dissoute dans une solution, un autre solvant est utilisée (d'où l'appellation d'extraction liquide-liquide) qui va dissoudre également cette espèce.

Lors du contact entre la solution et le solvant d'extraction l'espèce chimique passe de l'un à l'autre par conséquent, en fin d'extraction nous obtiendrons une nouvelle solution [31].

### **II.3.4 Extraction par séparation aqueuse à double phase**

L'extraction de la phycocyanine par la méthode de séparation biphasique est une technique de purification aussi très employée [32].

### **II.3.5 Extraction par le glycérol**

La macération est un procédé qui consiste à laisser séjourner un solide dans un liquide froid pour en extraire les composés solubles, ou bien pour que le liquide sera absorbé afin d'en obtenir le parfum ou la saveur, pour le conserver ou pour qu'il s'y décompose [33].

### **II.3.6 Extraction par l'eau**

Parmi Les méthodes les plus précises pour mesurer la teneur en pigments, il y'a la colorimétrie [30].

## **II.4 Application de phycocyanine**

### **II.4.1 Additifs alimentaires**

Le C-PC d'*A. Platensis* est commercialisé comme colorant alimentaire et cosmétique. Quelques études ont abordé la fonctionnalité du C-PC dans les aliments en ce qui concerne la stabilité de la couleur et les propriétés rhéologiques. Une plus grande attention a été accordée à l'utilisation du C-PC comme nutraceutique, en particulier dans les aliments santé dans lesquels *A. platensis* séché est le composant fonctionnel. Au-delà de leur valeur nutritionnelle [34].

### **II.4.2 Produits pharmaceutique**

Des cyanobactéries entières sont suggérées pour stimuler le système de défense immunitaire et possèdent des effets antioxydants, anti-inflammatoires, antiviraux, anticancéreux et hypocholestérolémiants, en partie à cause de leur teneur en C-PC. La plus grande voie d'absorption humaine de C-PC est sous forme non purifiée via les produits alimentaires de santé *A. platensis*, le C-PC étant le principal constituant antioxydant de cet organisme.

Cependant, les cyanobactéries peuvent également contenir une gamme d'autres composés biologiquement actifs [34].

#### **II.4.3 Application dans la thérapie photodynamique**

La PDT est une méthode qui produit des ROS par absorption et rétention sélectives de substance photosensible dans les tissus tumoraux malins des organismes et par photooxydation de molécules biologiques, entraînant la mort des cellules tumorales.

La C-PC est un matériau photosensible qui peut produire de l'oxygène singulet et d'autres radicaux libres d'oxygène sous excitation d'une longueur d'onde de lumière appropriée [35].

Des chercheurs ont proposé l'utilisation de C-PC dans la tumeur PDT [36] et ils ont confirmé l'effet photosensibilisateur de la sous unité C-PC [37] et son rôle dans la PDT des cellules de cancer du sein [38] et ont montré que ce mécanisme induit la mort des cellules tumorales en améliorant simultanément le système immunitaire et en initiant la voie de transduction du signal apoptotique dans la cellule.

### III. Mise en forme de la phycocyanine pour une application dans la photodégradation

#### III.1 Les biopolymères

Les biopolymères sont une classe de polymères produits par les organismes vivants : végétaux, animaux et microorganismes. Ce sont des macromolécules biologiques biodégradables renouvelables qui sont formées par la polymérisation de molécules plus simples ou monomères reliés entre eux par des liaisons dites « covalentes ». Les polysaccharides (celluloses et dérivés, amidons et dérivés, chitine et chitosane, etc.), les protéines (gélatine, gluten, etc.), les composés lipidiques (cires, acides gras et dérivés, etc.), l'ADN et l'ARN sont tous des exemples de biopolymères, dans lesquels les unités monomères, respectivement, sont des sucres, des acides aminés, des acides gras ou des acides nucléiques [39].

Les biopolymères d'origine naturelle peuvent être classés en quatre classes comme le montre la Figure I.3

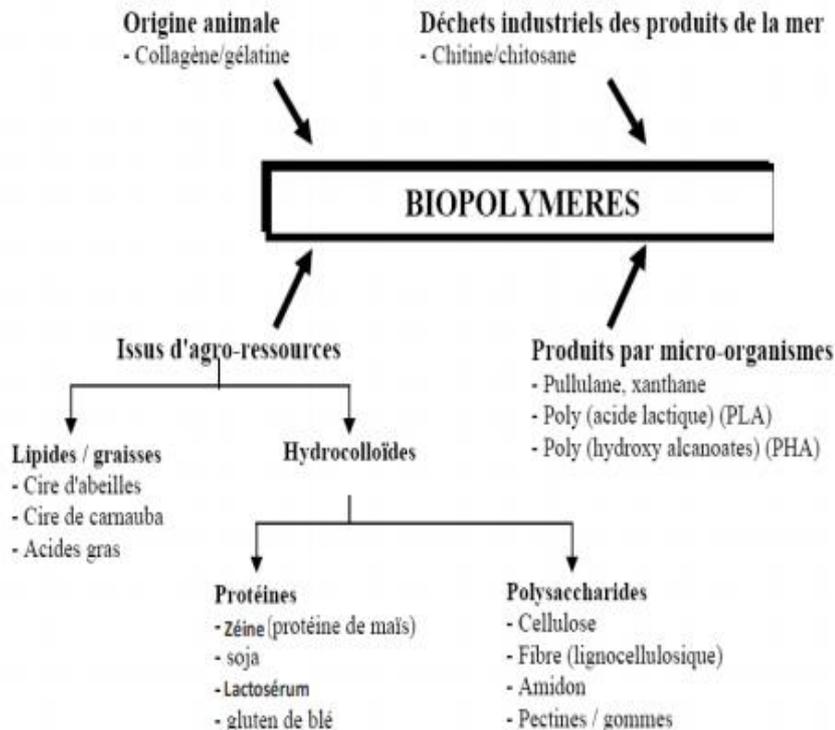


Figure I.3 : Schéma des biopolymères biodégradables d'origine naturelle [39].

### III.2 Définition du chitosane

Le chitosane, est un polysaccharide naturel cationique de glucosamine partiellement acétylé, forme d'unités D-glucosamine et N-acétyl-D-glucosamine, est dérivé par désacétylation de la chitine [40].

Le terme chitosane, loin de répondre à une seule et unique structure chimique bien définie, s'adresse à toute une famille de copolymères linéaires à arrangement aléatoire d'unités N'acétyl-D-glucosamine et de D-glucosamine en proportions variables, et liées entre elles par des liaisons  $\beta$  (1-4) qui confèrent au chitosane de bonnes caractéristiques filmogènes.

Il est présent dans la paroi cellulaire de certains micro-organismes fongiques (champignons), et dans les exosquelettes de certains crustacés et insectes [41].

### III.3 La structure de chitosane

Le chitosane (Figure I.4) est un copolymère composé de 2-acétamido-2-désoxy- $\beta$ -D-glucose et de 2-amino-2-désoxy- $\beta$ -D-glucose en proportions variables. En fonction du degré de désacétylation, la molécule est appelée chitine ou chitosane. La chitine, à l'état naturel, est elle-même désacétylé à 5 ou 15 %. Il est généralement admis qu'une quantité d'amine supérieure à 7 % permet de distinguer le chitosane de la chitine [42].

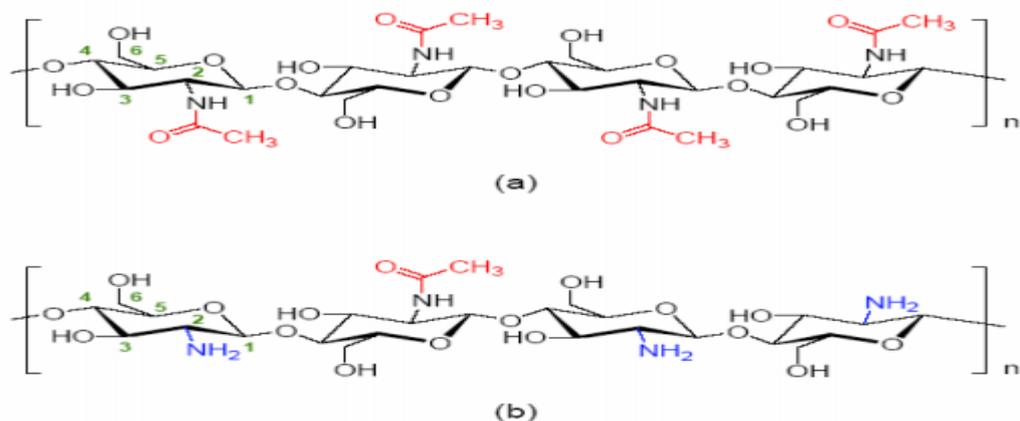


Figure I.4 : structure chimique de la chitine (a), du chitosane (b) (Olten et Enescu, 2007)

### III.4 La source de chitosane

Il faut retenir que la source majeure du chitosane provient de la désacétylation de la chitine obtenue à partir de crustacés. La production de chitosane provient, en effet, des crevettes et des crabes qui représentent les deux sources naturelles les plus abondantes. Ce sont donc des produits d'origine animale [40].

En revanche, le chitosane est une substance très peu répandue dans la nature. Elle est signalée que dans les exosquelettes de certains insectes (la paroi abdominale des reines de termites) et dans la paroi cellulaire d'une classe particulière de champignons (les zygomycètes), de bactéries et de levures. Il n'y a pas donc de sources primaires de chitosane exploitable la production étant assurée par transformation de déchets issus de la pêche [43].

### **III.5 Les propriétés physico-chimiques**

#### **III.5.1 Degré de désacétylation (DDA)**

Le degré d'acétylation (DA) est défini comme étant la fraction molaire des unités acétylées (unité acétyle glucosamine). Le degré de désacétylation ( $DDA=1-DA$ ) représente la proportion d'unités amine-D-glucosamine par rapport au nombre total d'unités glycosidiques [40].

DD est un paramètre structural qui influe sur les propriétés physico-chimiques telles que la masse moléculaire, la viscosité, la solubilité, la charge globale et la réactivité, les propriétés mécaniques comme l'élongation à la rupture, la résistance à la traction et les propriétés barrière. Il influe également sur la propriété biologique telle que la biocompatibilité, la biodégradabilité et l'activité biostimulante et anticholestérolémiant. L'analyse des différents types de chitosane utilisés est donc une étape indispensable avant l'évaluation de leurs capacités [40].

#### **III.5.2 Le poids moléculaire**

Le poids moléculaire d'un agent polymérique coagulant est considéré comme étant une des caractéristiques les plus importantes affectant la fonctionnalité du polymère en question. Parmi les différentes méthodes décrites dans la littérature, la chromatographie par perméation de gel est la plus couramment utilisée pour la détermination du poids moléculaire de chitosane ainsi que de sa polydispersité [40]. Par ailleurs, le viscosimètre demeure une méthode simple et rapide. À l'instar de sa composition, le poids moléculaire du chitosane varie avec la source du matériel brut ainsi que de sa méthode de préparation. En général, les hautes températures, l'oxygène dissout, et les conditions drastiques peuvent provoquer la dégradation du chitosane induisant la diminution de son poids moléculaire [44].

#### **III.5.3 La viscosité**

La viscosité est une caractéristique importante du chitosane concernant son comportement en solution. Cette caractéristique est liée à la conformation des chaînes macromoléculaires en

solution. La viscosité dépend, non seulement du DD, du MM, mais aussi du pH car ces deux paramètres déterminent la densité de charge sur la chaîne de polymère [45].

#### III.5.4 La solubilité

La solubilité du chitosane est couramment évaluée dans l'acide acétique ; toutefois, le volume d'acide nécessaire dépend de la quantité du chitosane à dissoudre et du nombre de protons nécessaires, ce dernier est égal à celui des unités amine NH<sub>2</sub>. Cette caractéristique est utile pour déterminer la pureté des produits obtenus [46]. En général, la solubilité du chitosane dépend non seulement de la valeur moyenne de degré de DA, mais aussi de la distribution des groupements acétylés le long de la chaîne macromoléculaire et également de son poids moléculaire [47]. La solubilité du chitosane diminue lorsque la valeur de DDA diminue.

Le chitosane est en effet insoluble dans l'eau et dans les solutions alcalines concentrées ou diluées, ainsi que dans les solvants purs et les acides concentrés en raison de l'impossibilité d'hydrater le matériau [48].

**Tableau I.4** : Variation de la solubilité du chitosane en fonction du DDA à pH = 6 [49].

Degré de désacétylation (DDA %)	Solubilité de chitosane
>75	Parfaite
=50	Moyenne
<40	Faible

#### III.5.5 La cristallinité

La cristallinité est un paramètre important car elle contrôle un certain nombre de propriétés comme l'accessibilité des sites internes dans les chaînes macromoléculaires, les propriétés de gonflement dans l'eau ou encore les propriétés diffusionnelles. La cristallinité est, en général, déterminée par des mesures de diffraction de rayons X [41].

Le chitosane est une substance semi-cristalline. Il se cristallise dans le système orthorhombique. Deux types de chitosane sont connus : le chitosane I (faible DD, sous forme de sel) qui est plus désordonné que le chitosane II (fort DD, forme amine libre) [40].

### **III.6 Propriétés antioxydants**

En raison des atomes d'hydrogène protéique des groupements amines au niveau de carbone C2 ou hydroxyles au niveau des carbones C3 et C6 du chitosane, ce biopolymère a une activité antioxydant formant des radicaux macromoléculaires [50]. Les degrés de polymérisation et de désacétylation (DD) sont les éléments clés de l'activité antioxydant du chitosane. En effet, le chitosane à faible poids moléculaire a une activité antioxydant très importante en comparaison avec le chitosane à poids moléculaire élevé dans lequel les atomes d'hydrogène protéique sont bloqués [51]. Par exemple, un poids moléculaire allant de 1 à 3 KDa et un degré de désacétylation de 90 % ont été corrélés avec une haute capacité antioxydant [52].

### **III.7 Le procédé d'extraction du chitosane à partir la chitine**

Les déchets de l'industrie des crustacés sont une source très importante de chitine. De nombreuses méthodes ont été développées afin de préparer la chitine à partir des exosquelettes.

Procédé d'extraction de la chitine La faible teneur de la chitine dans les organismes tels que les insectes et les champignons, laisse à suggérer que les crustacés sont les principales sources fournissant cette matière première (chitine) [53]. De nombreuses méthodes ont été développées afin de préparer la chitine à partir des carapaces de ces crustacés. Parmi ces méthodes, les méthodes chimiques sont les plus utilisées. L'extraction chimique consiste en déminéralisation acide et une déprotéinisation basique. Le protocole adopté est inspiré de [54]. De manière générale, elles consistent à éliminer les protéines (déprotéinisation), les éléments minéraux (déminéralisation) et la couleur (décoloration et blanchiment) (Figure I.5) [55].

#### **III.7.1 Déminéralisation**

Elle est généralement, réalisée par un traitement acide sous agitation pour solubiliser le carbonate de calcium et le chlorure de calcium. Les acides les plus fréquemment utilisés sont l'acide chlorhydrique et l'acide formique, à des concentrations variables de 1 à 10 mol/L. La durée du traitement acide est de l'ordre de 1 à 48 heures à la température ambiante [56].

#### **III.7.2 Déprotéinisation**

La déprotéinisation de la chitine consiste à solubiliser les protéines (environ 30-40%) présentes dans la chitine dans une solution aqueuse. Elle peut être effectuée de façon douce ou sévère. Les méthodes douces utilisent des enzymes qui dégradent les protéines en peptides solubles dans l'eau. Ces méthodes sont peu coûteuses, mais ne permettent pas l'élimination

complète des protéines. L'emploi de soude à température élevée est généralement utilisé pour solubiliser une plus grande partie des protéines.

Les carapaces déminéralisées, après des lavages à l'eau jusqu'au pH neutre, ont été mélangées dans des solutions de soude caustique (NaOH) en proportion 1:10 p/v (poids de carapace sec/volume NaOH). Les expériences de cette étape ont été réalisées avec des concentrations de NaOH de 0.5, 1, 2, 3 et 60 %, à des températures de 25,60 et 80°C pendant des périodes de 30 min, 3h, 21h et 24h [57].

### **III.7.3 Blanchiment**

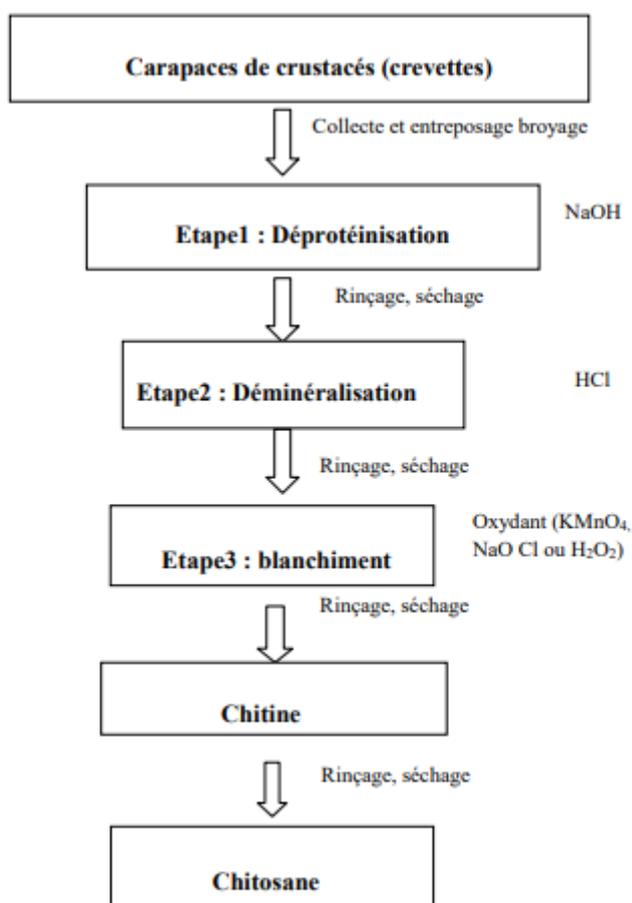
Pour certaines applications industrielles (pharmaceutiques, cosmétiques, agroalimentaires,...), la chitine obtenue à partir des ressources de crustacés doit être décolorée après les traitements acide et alcalin pour éliminer les pigments résiduels [58].

### **III.7.4 Désacétylation**

L'étape la plus délicate reste la désacétylation qui nécessite de substituer suffisamment les groupements acétylé pour aboutir au chitosane, ce qui peut entraîner une réduction excessive de la longueur de chaîne du polymère. En jouant sur la durée du traitement alcalin et sur l'élévation de la température, il est donc possible d'obtenir différents chitosane à partir d'une même chitine. Un degré d'acétylation (DA) inférieur à 10% est rarement atteint par un procédé simple [59].

Le rendement de désacétylation et la qualité du chitosane varient selon l'origine de la matière première utilisée (crevettes, crabes, calamars,...) et de la procédure d'extraction (la température, la durée, la concentration d'alcalin, les traitements préalables pour l'obtention de la chitine, l'atmosphère (air ou azote), la quantité de chitine par rapport à la solution alcaline, la densité de la chitine et la taille des particules). Des conditions trop drastiques conduisent à une dégradation physique du biopolymères (avec une chute importante de la masse moléculaire et/ou une oxydation des extrémités réductrices des chaînes macromoléculaires), alors que des conditions trop douces ne permettent pas une désacétylation suffisante. Ceci permet d'expliquer parfois la difficulté d'obtenir de manière reproductible des produits de composition prédéterminée. [40] Par rapport à la chitine, le chitosane présente des caractéristiques et des propriétés particulièrement intéressantes.

Ainsi, ce polymère est biocompatible, biodégradable, non antigénique et non toxique.



**Figure I.5 :** Principales étapes d'extraction de la chitine et sa transformation en chitosane [58].

### III.8 Les applications de chitosane :

Le chitosane a des applications étendues et très diverses comme dans les industries d'alimentation, de textile et de produits de beauté, en plus des applications environnementales et biomédicales. Le tableau suivant présente quelques applications du chitosane.

**Tableau I.5 :** propriétés et domaine d'application du chitosane [60].

Domaines d'applications	Les applications
Agriculture	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Enrobage des semences</li> <li>• Alimentation des volailles</li> <li>• Fertilisant</li> </ul>

---

**Alimentaires**

- Additifs alimentaires (liant, émulsifiant, stabilisant.)
  - Clarification des boissons
- 

**Biomédicales**

- Agent bactériostatique
  - Vaisseaux sanguins artificiels
  - Gel dentaire
  - Lentille cristalline (ophtalmologie)
  - Réduction du taux de cholestérol
  - Peaux artificielles
  - Accélération de la cicatrisation des blessures
- 

**Cosmétique**

- Agent de liaison dans les crèmes
- Emulsifiant
- Humidifiant
- Soins capillaires

**Environnement**

(traitement des eaux usées et des déchets)

- Purification des eaux par floculation
  - Formation de complexes avec les métaux
- 

**Autres**

- Acoustiques
  - Biotechnologie
  - Industrie papetière
  - Textile
  - Photographie
  - Membrane des haut-parleurs
  - Immobilisation des cellules et des enzymes additifs (imperméabilisant...)
  - Films
-

### III.9 La mise en forme de la phycocyanine et le chitosane

#### III.9.1 Greffage de la phycocyanine sur le chitosane

Les recherches récentes montrent que la CPC greffé sur chitosane (NSC CPC) a été obtenu en faisant réagir la CPC avec NSC. En prenant le degré de substitution comme indice les conditions de la réaction ont été optimisées par une expérience à facteur unique [61].

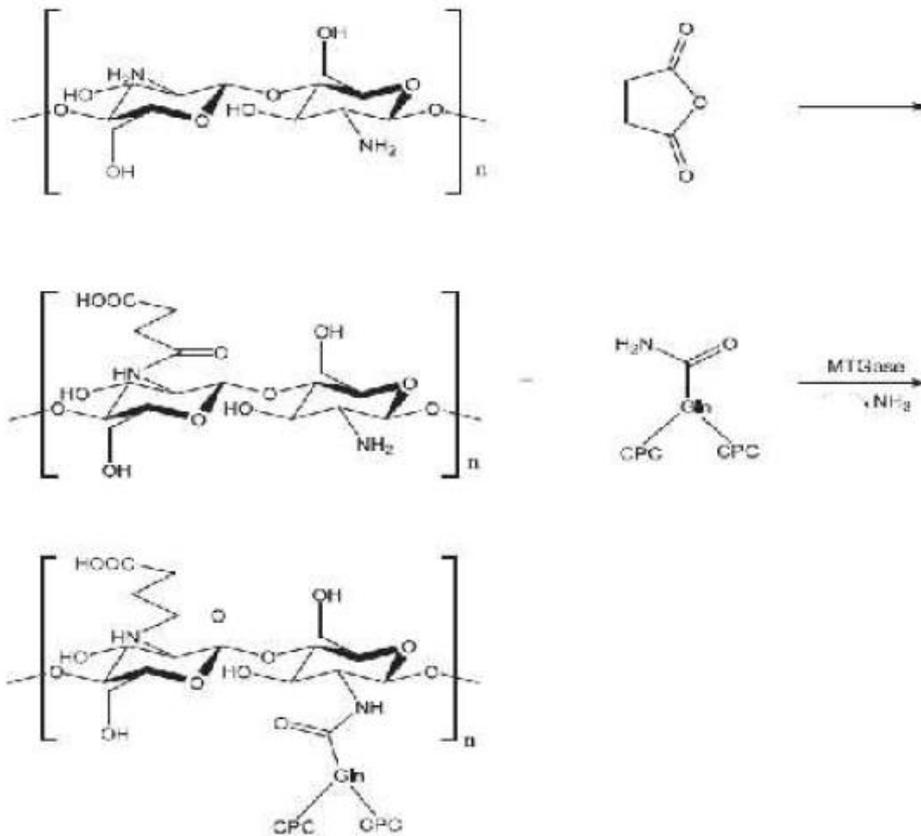


Figure I.6. La synthèse de N succinyl chitosane C phycocyanine peptide (NSC CPC).

#### III.9.2 Phénomène d'adsorption

L'adsorption (à ne pas confondre avec l'absorption) est un phénomène de surface lorsque des molécules gazeuses ou liquides adhèrent à la surface solide de l'adsorbant selon divers processus plus ou moins intenses. Si la qualité d'adsorption est bonne, la taille moléculaire des molécules adsorbées est très importante, notamment lorsque la taille des grains cristallins est petite. L'adsorption est un phénomène d'auto-découverte qui se produit en abaissant la pression artérielle de la surface [62].

### **III.9.3 la photodégradation**

Deux types de dégradation photo-catalytique des composés organiques dans l'environnement sont envisagés (direct et indirect).

**La photodégradation directe** La photodégradation directe implique l'absorption des radiations UV par la molécule à détruire, qui passe ainsi par un état excité favorisant sa dégradation. La présence d'au moins un groupement chromophore est nécessaire. Dans ce cas, la transformation du composé chimique est une conséquence directe de l'absorption d'un photon [63].

**La photodégradation indirecte** La photodégradation indirecte est la dégradation influencée par la présence de certains composés qui existent généralement dans la nature appelés photosensibilisateurs ou espèces réactives [64]. Ils absorbent eux-mêmes la lumière et transmettent ensuite l'excédent de leur énergie à la molécule polluante. Deux types de photodégradation indirecte peuvent être envisagés :

- Photocatalyse homogène.
- Photocatalyse hétérogène.

# Chapitre II

## Matériels et méthodes

## II.1 Matériels et méthodes

### II.1.2 Solutions préparées et produits

Tous les produits et les solvants ont été utilisés sans purification préalable, et sont regroupés dans le tableau II.1.

Tableau II.1 : solvants et les produits utilisés dans l'étude

Produits	La formule chimique	La masse moléculaire
Acide chlorhydrique	HCl	36.46
Hydroxyde de sodium	NaOH	40.00
Acide acétique	CH <sub>3</sub> COOH	60.05
Chlorure de potassium	KCl	74.55
Chlorure de sodium	NaCl	58.44
Phosphate de potassium anhydre monobasique	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	136.09
Phosphate de sodium dibasique anhydre	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	141.96
Sel EDTA disodique	EDTA	358.14
L'eau distillée		
Les carapaces de crevettes		
La spiruline platensis		

## II.2 Mode opératoire

Les exosquelettes (carapaces) de crevettes grises et roses fraîches utilisées dans cette étude pour synthétiser le chitosane sont ramenées d'un poissonnier situé à la Wilaya de Blida (les crevettes sont pêchées dans le mois de Mars de la mer méditerranéenne). L'extraction de la chitine en deux étapes :

- La déminéralisation
- La déprotéinisation

Et pour l'obtention de chitosane par la désacétylation.

dans le diagramme ci-dessus ,on présente les différents étapes de l'extraction de chitosane :

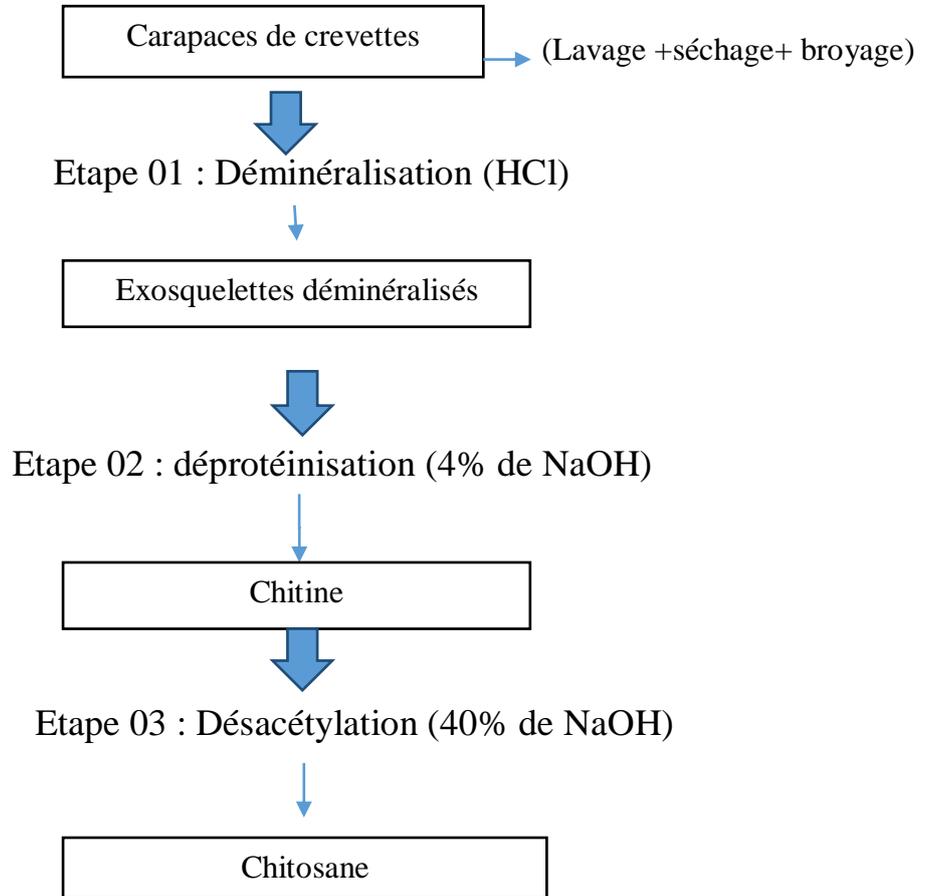


Figure II.1 : Étapes de l'extraction du chitosane des exosquelettes de crevettes (en trois étapes).

### II.2. 1 Prétraitement des carapaces

Les déchets des carapaces de crevettes sont lavés avec de l'eau plusieurs fois, ensuite séchées pendant sept jours (une semaine) à l'étuve pour une température fixée 40°C, après broyés par un mixeur de marque **SILVERCREST SMZ26012** et conservées jusqu'à l'utilisation. La figure II.2 présente l'opération de prétraitement des carapaces de crevettes.

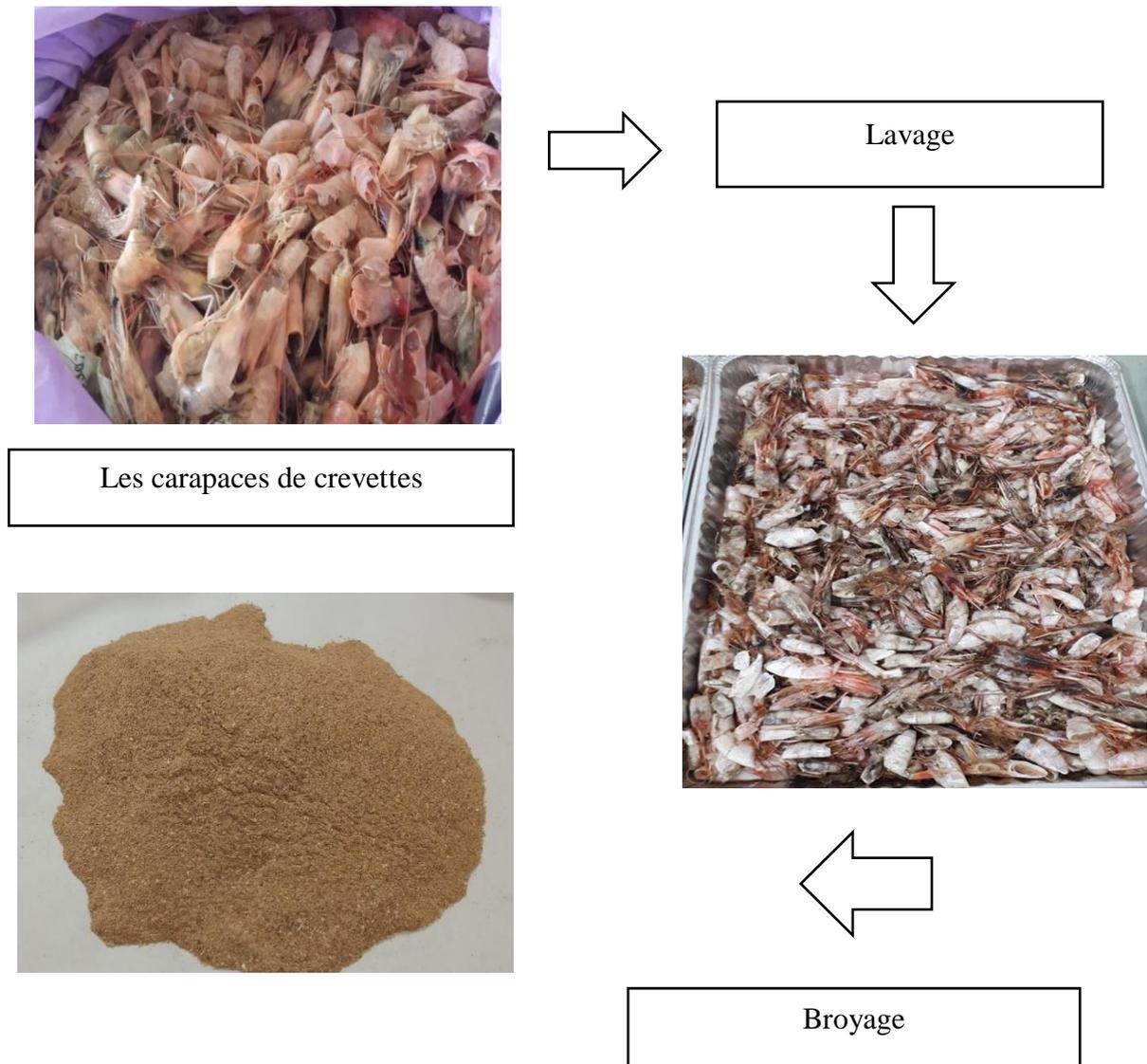


Figure II.2 : l'opération de prétraitement des carapaces de crevettes

## II.2.2 l'extraction de chitosane

### II.2.2.1 Déminéralisation

Les carapaces une fois prétraitées (lavage, séchage et broyage), les carapaces de crevette du masse est égale à 112 g ont été immergées dans une solution de HCL 1 M et 1,5 M, respectivement, avec le rapport (p / v) de 1 : 9 à T= 35 °C pendant 2 h à l'aide d'un agitateur –plaque chauffante de marque **VELP SCIENTIFICA** [65].

### II.2.2.2 Déprotéinisation

La déprotéinisation a été réalisée par 4% de NaOH avec le rapport (p / v) de 1: 4 ont été utilisés à 30 ° C pendant 24 h [65].

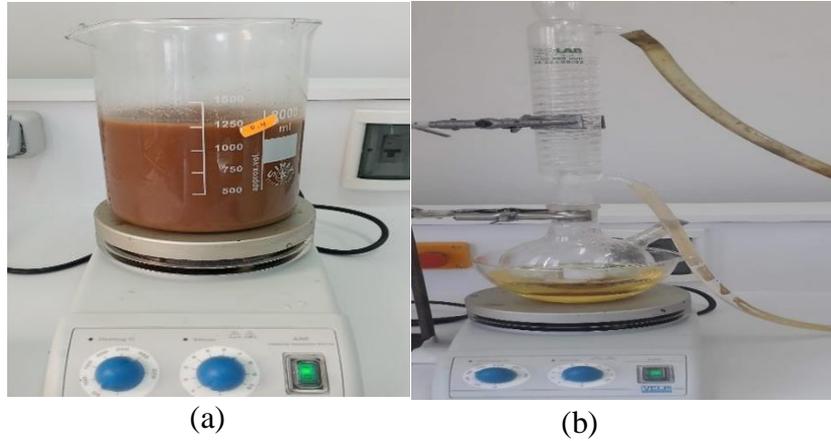


Figure II.3 :a) l'étape de déminéralisation (sous l'agitation).

b) l'étape de déprotéinisation à l'aide d'un montage à reflux.

### II.2.2.3 Désacétylation de chitine

Après avoir préparé la chitine, nous avons procédé à l'optimiser, cette étape la plus délicate qui met en œuvre la substitution d'un nombre maximal et suffisant de groupements acétyles, pour aboutir au chitosane. La désacétylation a été effectuée par un traitement de NaOH à 40% avec le rapport (p / v) de 1: 4 été employé. La réaction s'est produite d'abord à une température 60 ° C pendant une heure, puis à 100 ° C pendant 2 h. À la fin de la réaction, le biopolymère chitosane a été obtenu [65].



Figure II.4 : la filtration de chitosane avec la pompe sous vide.

## Remarque

A chaque étape, l'échantillon a été filtré et lavé avec de l'eau distillée pour atteindre la neutralité, cette étape a été effectuée en utilisant une pompe sous vide et un pH-mètre.

Dans cette étape, nous avons séché le chitosane obtenu à l'étuve de marque **Memmert** pour une température  $T=40^{\circ}\text{C}$  pendant 24h. La masse finale de chitosane obtenue est 12.55g. Et après 24h le produit a été séché et prêt à l'utiliser.



Figure II.5 : le biopolymère chitosane .

## II.3 Extraction de phycocyanine

### II.3.1 Matériel biologique

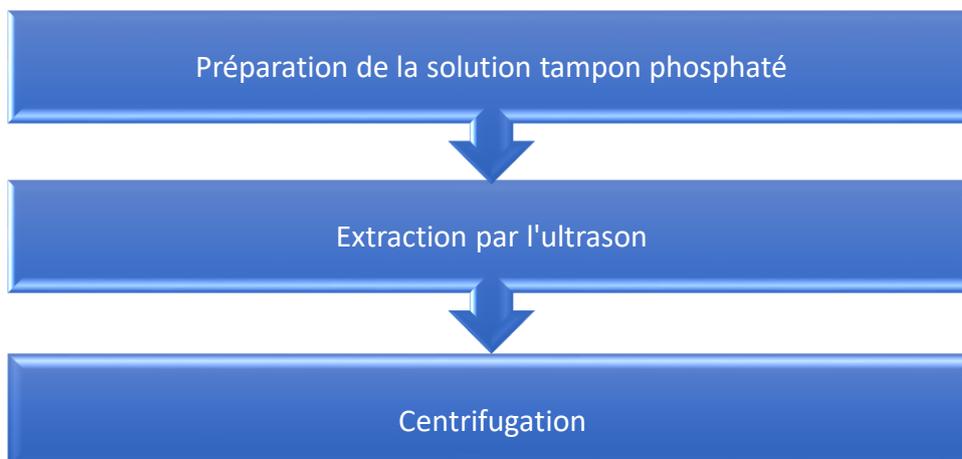
Le produit naturel utilisé est la spiruline platensis c'est une micro algue sous forme de poudre sèche. Cette espèce est provient de l'ouest de l'Algérie exacte de la wilaya d'Oran. la figure II.6 : Présente la spiruline.



Figure II.6 : la spiruline sous forme poudre verte

### II.3.2 Les étapes de l'extraction de phycocyanine

Ce schéma résume les trois étapes principales de l'extraction.



#### II.3.2.1 Préparation de solution tampon phosphaté

Dans un volume de 1L de l'eau distillée on a ajouté successivement 8,77g de NaCl, 2,01 g de KCl, 11,36 g de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 2,72 g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> et 3,72 g de Na<sub>2</sub> EDTA [66].

Puis nous avons ajusté le pH entre 7,45 et 7,50 en utilisant 3-4 ml de 5 mol. L<sup>-1</sup> NaOH.

#### II.3.2.2 L'extraction de la phycocyanine par ultrason

L'extraction par ultrasons est le meilleur moyen de détruire les cellules d'algues de manière efficace et rapide. Le traitement par ultrasons peut libérer tous les composés biologiquement actifs, ce qui rend la technologie à ultrasons très efficace [67].

Cette étape est très délicate doit être effectuée sous un éclairage faible pour éviter la dégradation photochimique de la phycocyanine (à l'abride la lumière on utilise de papier aluminium).

On ajoute 1g de spiruline dans 10 ml de la solution tampon phosphaté dans un erlenmeyer bien couvert dans le bain de l'ultrason avec de l'eau du robinet froid utilisant de la glace, la sonification dure 10 minutes (cette étape réduit la turbidité des extraits) [66].

#### II.3.2.3 Centrifugation

La séparation centrifuge des liquides utilise le principe de la force centrifuge pour séparer des substances de densités différentes, assurant une séparation rapide des substances qui normalement se séparent lentement sous l'action de la gravité.

La centrifugation consiste à accélérer la décantation dans un champ de force allant jusqu'à 100 N et à séparer complètement le liquide en quelques minutes. Le liquide ou son

mélange se déplace en continu à travers le rotor de la centrifugeuse, et la phase séparée s'écoule également en continu [68].

Alors on met l'échantillon dans la centrifugeuse pendant 20minutes à température 4 C° pour 4000rpm, et on assure qu'aucune particule de filtre ne reste dans la partie supérieure du tube [66]. On conserve les échantillons dans un réfrigérateur à température 4°C, et tenir à l'abri du soleil.

Ce schéma représente les différentes étapes d'extraction de la phycocyanine :



Figure II.7 : les principales étapes l'extraction de la phycocyanine.

## **II.4 Elaboration de matériau biopolymère**

Dans cette partie, nous allons étudier l'élaboration d'un biomatériau qui est le chitosane sur lequel nous avons greffé la phycocyanine extrait de la spiruline platensis par deux voies différentes :

### **a. Réaction d'estérification**

La réaction d'estérification est une sorte de synthèse en chimie organique ester. C'est la réaction de condensation de l'alcool et de l'acide carboxylique. Peut faire à partir d'autres réactifs, notamment à la place de l'acide carboxylique, une sorte de Dérivés (chlorure d'acide ou anhydride d'acide) pour augmenter le rendement en esters [69].

### **b. Définition de l'adsorption**

L'adsorption (à ne pas confondre avec l'absorption) est un phénomène superficiel Lorsque des molécules de gaz ou de liquide sont attachées à la surface solide de l'adsorbant Selon divers procédés plus ou moins intenses. Si la qualité est bonne pour l'adsorption La taille moléculaire des molécules adsorbées est très élevée, surtout si la taille des grains cristallins est plus grande faible. L'adsorption est un phénomène de découverte de soi qui se produit pour abaisser la tension artérielle Surface de surface [62].

### **II.4.1 Film par réaction d'estérification**

Cela consiste à dissoudre une masse de 1 g de chitosane dans 2% d'acide acétique sous l'agitation pendant trois jours en plus une 40 min dans l'ultrason jusqu'à la dissolution totale de chitosane.

Après on rajoute 10 ml de la phycocyanine plus 20ml d'acide acétique et 2 ml de l'acide sulfurique cette étape a été effectuée à l'aide d'un montage à reflux pendant 8 heures.

Puis on rajoute 600 ml de l'eau distillée dans la solution précédente et on la laisse sous l'agitation pendant 5 min.

Afin d'obtenir un film (CPC + NSC) on a fait une centrifugation qu'a effectué à l'aide d'une centrifugation de marque **PrO-Analytical by centurion scientific Ltd**, Pendant 15 minutes pour 4000 tr/min.

Une filtration à l'aide une pompe à sous vide pour bien récupérer le mélange et faites un séchage à l'étuve à température 40°C pendant 24 h.

Ce schéma résume les étapes de greffer le chitosane sur la phycocyanine.

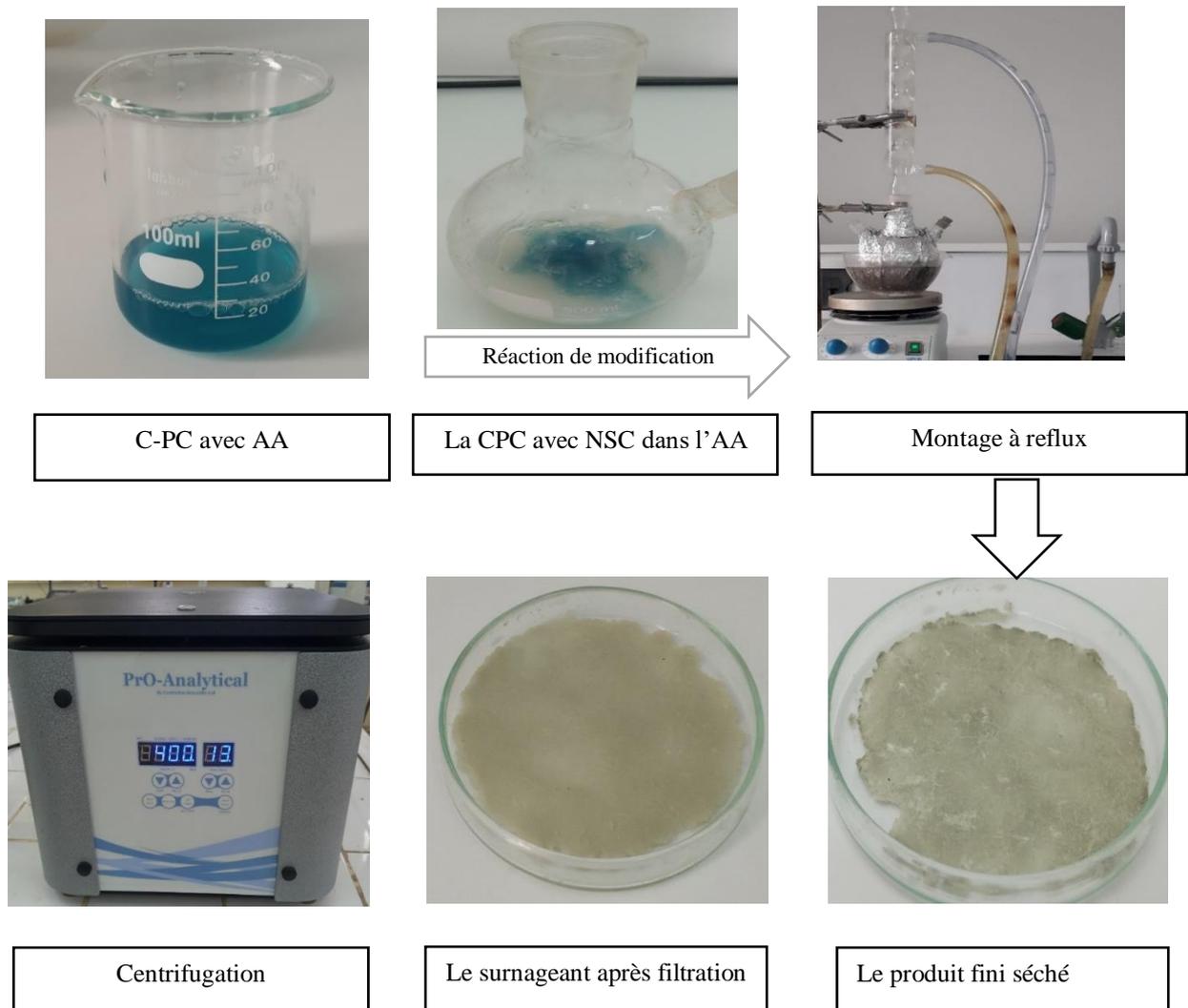


Figure II.8 : les étapes de greffer le chitosane sur la phycocyanine.

#### II.4.2 Poudre par l'adsorption

Dans le but d'adsorption de la phycocyanine par le biopolymère chitosane nous allons faire cette étude par des différentes concentrations de la phycocyanine, alors on a préparé trois solutions de phycocyanine (1% 2% et 5%) pour chaque concentrations on rajoute 0.1g de chitosane, on verse les solutions dans des flacons et on agite pour quelque seconde pour avoir mesuré le pH puis les flacons ont met dans le secoueur pendant 3 heures.

Les solutions sont filtrées par une pompe sous vide puis les adsorbants de différentes concentrations ont été étuvés pendant 24 heures.

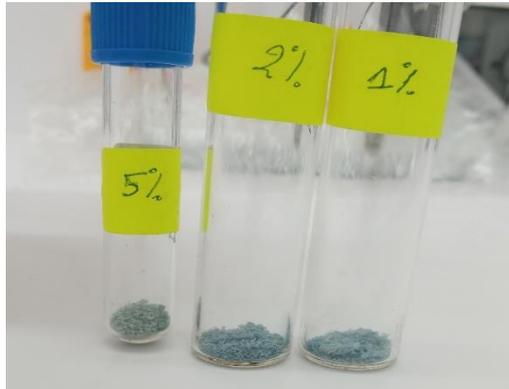


Figure II.9 : la phycocyanine d'adsorbée par le chitosane.

### II.5 Applications des films et des poudres dans la photodégradation

Nous avons étudié l'adsorption du MO par les poudres et le film préparés à base de chitosane et la phycocyanine, nous avons préparé quatre flacons de 0,01g de chaque poudre et aussi le film déjà obtenus dans 50 ml de la solution de méthyle orange à concentration de 10% , Les quatre flacons conservés loin de la lumière pour une durée maximale.

Après on a mesuré l'absorbance à l'aide d'un spectromètre UV Visible.

Puis on a fait la photodégradation de ces solution sous la lumière visible pendant 4h, et à chaque instant on fait un prélèvement pour mesuré l'absorbance à l'aide d'un spectromètre UV Visible.

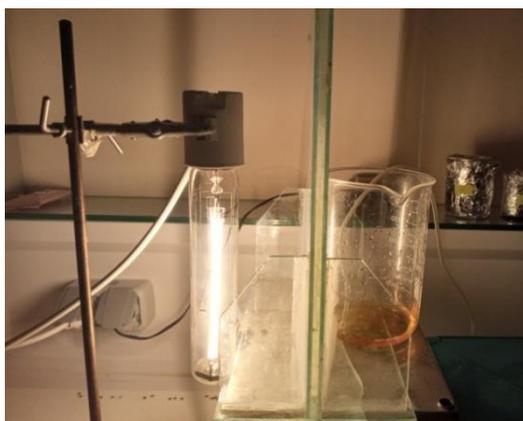


Figure II.10 : l'étape de la photodégradation

## II.6 Méthodes de caractérisation de chitosane

### II.6.1 Caractérisation physique et chimique de chitosane synthétisé

#### A. Test de solubilité

Pour tester la solubilité de chitosane extrait dans des différents milieux en (acide, basique et neutre) [70], le test de solubilité est réalisé dans de l'acide acétique et dans NaOH et de l'eau distillée.

On Pèse 0,05 g de chitosane du produit dans 50 ml des trois solutions sous agitation pendant 24 heures. On dissolv le chitosane

Et aussi dans l'acide chlorhydrique, l'éthanol et l'acétone ; 1 g d'échantillon ont été introduits séparément et sous l'agitation magnétique pendant 24h dans un volume de 10 ml [71].

#### B. Caractérisation du chitosane synthétisé par la spectroscopie IRTF

La spectroscopie infrarouge fournit des informations sur l'interaction de la matière et du rayonnement en fonction de la fréquence du rayonnement incident (c'est-à-dire son énergie), généralement ultraviolet, visible ou infrarouge. Cela dépendra de la sensibilité de l'instrument et de la nature (état physique) de l'échantillon [72].

La spectroscopie IRTF a été utilisée pour étudier la composition et la structure du chitosane synthétisé. Cette analyse a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre FTIR de marque **SHIMADZU** dans la plage de 400-4000  $\text{cm}^{-1}$ .

L'analyse consiste à broyer 0.001g de chitosane avec un sel purifié 0.1 g de Kbr (le bromure de potassium) afin d'annuler les effets de diffusion des gros cristaux.



Figure II.11 : Préparation de l'échantillon en pastille de Kbr.

Ce mélange en poudre est comprimé dans une presse pour fournir des particules translucides lesquelles le faisceau du spectromètre peut passer. Avant d'effectuer le spectre, l'échantillon a été étuvé à 50° C pendant 24 heures [73].

La détermination de DA par la méthode la plus simple est celle de la spectroscopie IR proposée par Le degré DA des échantillons a été déterminé en utilisant la formule suivante :  $DA = ((A_{1320}/A_{1420}) - 0.03822) / 0.03133$

Avec A<sub>1320</sub>, A<sub>1420</sub> sont les absorbances des pics à 1320 et 1420 cm<sup>-1</sup>

Et pour déterminer le DAA en utilisant la formule suivant :  $DDA = 100 - DA$

DA : degré d'acétylation

DDA : degré de désacétylation

### **C. Caractérisation par diffraction par les rayons X (DRX)**

La diffraction des rayons X est utilisée pour étudier la cristallinités de plusieurs matériaux.

La méthode générale consiste à bombarder l'échantillon avec des rayons X puis à observer l'intensité des rayons X diffusés selon la direction spatiale. La déviation structurelle de ce rayon X sur le cristal peut déterminer le degré de cristallinité [74].

L'indice de cristallinité (I<sub>cr</sub>) indique la proportion de région cristalline dans un échantillon de chitosane. Cette technique distingue les régions cristallines des régions amorphes. Déterminer l'indice I<sub>cr</sub> à partir des résultats de diffraction. .cette méthode est basé sur le rapport entre la somme totale des aires des zones cristallines sur la somme totale des aires [75].

L'analyse aux ray-X est utilisée pour détecter l'indice de cristallinité est :

$$Cri\% = (I_{max} - I_{am} / I_{max}) \times 100$$

I<sub>max</sub> : la valeur d'intensité à 2θ égales 20°

I<sub>am</sub> : la valeur d'intensité à 2θ de 10°.

# Chapitre III

## Résultats et discussions

### III.1. Extraction et caractérisation du chitosane

La matière première utilisée dans cette étude qui est les exosquelettes de crevettes rouges et grises, après un prétraitement (lavage séchage et broyage), nous avons procédé à l'extraction de la chitine.

#### III.1.1. L'extraction de la chitine

L'extraction de chitine par une méthode chimique est réalisée en deux étapes : la déminéralisation et la déprotéinisation.

Pour calculer le rendement massique de la chitine en utilisant la formule suivante :

$$R\% = ((m_1 - m_2) / m_1) \times 100 \longrightarrow R\% = ((112 - 19.90) / 112) \times 100$$

$m_1$  : la masse initiale de la poudre des carapaces de crevette.

$m_2$  : la masse de la chitine après les deux étapes déminéralisation et déprotéinisation.

Le rendement de l'extraction de la chitine est égale 82.23%.

#### III.1.2. L'extraction de chitosane

La dernière étape est la désacétylation de la chitine, cette étape a été effectuée par une solution basique de 40%.

Le rendement massique après la désacétylation égale 36.93%, le chitosane obtenu est sous forme poudre de couleur beige.

### III.1.3 caractérisation physicochimiques de chitosane

#### III.1.3.1 Résultats de test de solubilité

Après l'extraction le chitosane doit subir des analyses physiques et chimiques telle que la détermination de solubilité dans des différents solvants les résultats sont regroupés dans un tableau.

**Tableau III.1** : Résultats de test de solubilité de chitosane synthétisé.

solutions	L'eau	Acide chlorhydrique	Acide acétique	Ethanol	Acétone	NaOH
Chitosane extrait	Insoluble	Soluble	Soluble	Insoluble	Insoluble	Insoluble

En général, le chitosane est parfaitement soluble dans les milieux aqueux acides grâce à la protonation, En fait, le groupe amine ( $NH_2$ ) du chitosane est proton à partir de pH 3-4, et le polymère chargé positivement ( $NH_3^+$ ) devient soluble. Son meilleur solvant est l'acide acétique.

Effectivement le chitosane est insoluble dans l'eau distillée et le solvant alcalins concentrée et diluée [76].

### III.1.3.2 Détermination du degré de désacétylation par spectroscopie FTIR

La détermination de (DA) par la méthode la plus simple et la plus rapide pour calculer le degré (DA) est celle de la spectroscopie IR.

Le degré DA des échantillons a été déterminé en utilisant la formule suivante :

$$DA = ((A_{1320}/A_{1420}) - 0.03822) / 0.03133$$

Avec A<sub>1320</sub>, A<sub>1420</sub> sont les absorbances des pics à 1320 et 1420 cm<sup>-1</sup>

Et pour déterminer le DAA en utilisant la formule suivant : DDA=100-DA

DA : degré d'acétylation

DDA : degré de désacétylation

Le degré de désacétylation est DDA= 81.39%.

### III.1.3.3 Résultats Caractérisation par diffraction de rayons X (DRX)

L'analyse de DRX a été effectuée pour étudier l'état de cristallinité du chitosane extrait.

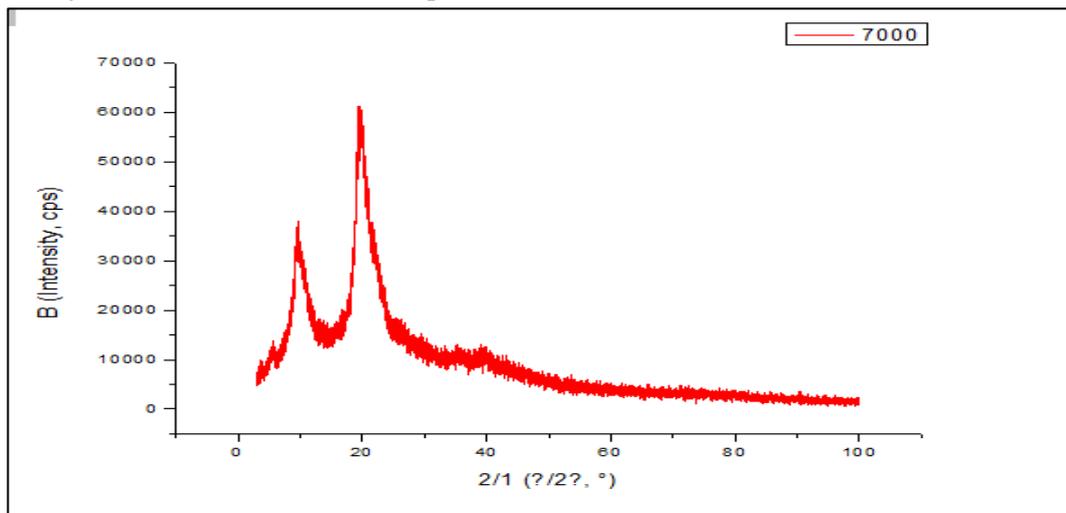


Figure III.1 : Diffractogramme de chitosane extrait.

On remarque que le chitosane extrait montre un pic intense de réflexion autour de  $2\theta=20^\circ$  dans le rang de  $2\theta=15$  à  $40^\circ$ , ce pic explique la valeur de degré de désacétylation du chitosane extrait.

Tandis que le Diffractogramme montre que la cristallinité du chitosane, ainsi la diminution de l'intensité de réflexion du pic du chitosane extrait indique la diminution des acétamides.

La technique adoptée pour déterminer l'indice de cristallinité consiste à calculer le rapport entre l'aire des pics associés aux zones cristallines sur l'aire totale. L'indice de cristallinité atteint donc 33.33 % pour le chitosane, donc le chitosane est semi-cristallin.

L'analyse aux ray-X est utilisée pour détecter l'indice de cristallinité est :

$$\text{Cri}\% = (\text{I}_{\text{max}} - \text{I}_{\text{am}} / \text{I}_{\text{max}}) \times 100$$

$\text{I}_{\text{max}}$  : la valeur d'intensité à  $2\theta$  égales  $20^\circ$

$\text{I}_{\text{am}}$  : la valeur d'intensité à  $2\theta$  de  $10^\circ$ .

L'indice de cristallinité est égale  $\text{Cri}\% = 33.33\%$

### III.1.3.4 caractérisation du chitosane par spectroscopie Infrarouge FTIR

Le spectre FTIR du chitosane est représenté dans la figure III.2.

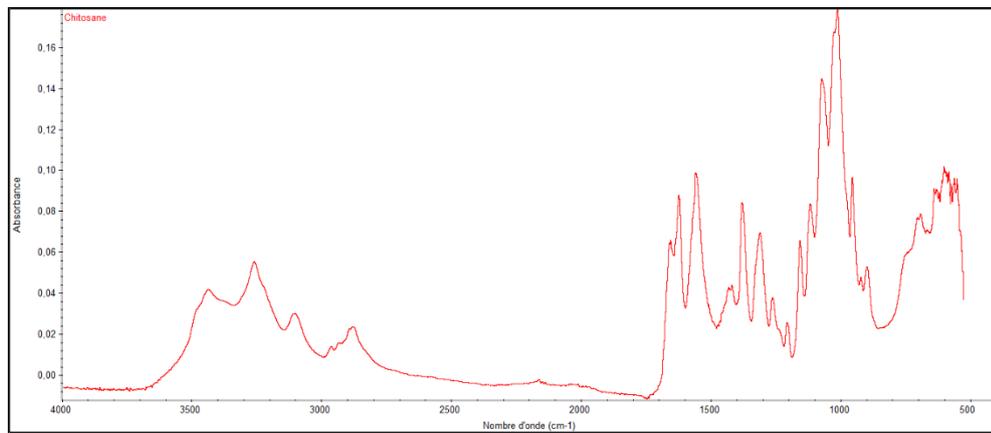


Figure III.2 : Spectre IR de chitosane.

La figure présente les différents groupements relatifs au chitosane, l'examen de ces spectres fait apparaître les bandes d'adsorption suivantes :

- Une forte bande étroite dans la région  $3291\text{cm}^{-1}$  correspond aux étirements N-H et une autre plus large vers  $3610\text{cm}^{-1}$  due au vibration d'élongation des liaisons O-H.
- Les bandes à  $2890\text{cm}^{-1}$  et  $2930\text{cm}^{-1}$  sont due aux vibrations d'élongation des  $\text{CH}_2$  et  $\text{CH}_3$ .
- La bande à  $1066\text{-}1028\text{cm}^{-1}$  correspond aux vibrations d'élongations de la liaison C-O. Toutes les bandes ont été trouvées dans les spectres d'échantillons de chitosane rapportés dans la littérature [77,78].
- La présence de groupes N-acétyle résiduels est confirmés par la présence des bandes vers  $1645\text{cm}^{-1}$  (C = O amide étiré I) et  $1325\text{cm}^{-1}$  (C-N Etirement de l'amide III),
- Nous n'avons pas trouvé le groupe correspondant à la flexion N-H de l'amide II à  $1550\text{cm}^{-1}$ . Il s'agit de la troisième bande caractéristique d'un groupe N-acétyle typique, et elle peut se chevaucher avec d'autres bandes. Le groupe à  $1589\text{cm}^{-1}$

correspond au coude N-H de l'amine primaire. [79] Les déformations symétriques CH<sub>2</sub> et CH<sub>3</sub> sont confirmées par la présence de bandes vers 1423 et 1375 cm<sup>-1</sup>

- La bande d'adsorption des groupes N'acétyle résiduels Environ 1645 cm<sup>-1</sup> (C = O amide étiré I) et 1325 cm<sup>-1</sup> (C-N Etirement de l'amide III)-.

### III.2 Résultats d'extraction de la phycocyanine

L'extraction de la phycocyanine a été effectuée à l'aide d'une méthode de sonification par l'ultrasonore efficace pour l'isolement d'extrait de micro algues de la qualité supérieure.

Les résultats d'extraction sont résumés dans le tableau suivant :

**Tableau III.2 :** Résultats caractéristiques de la phycocyanine extrait.

L'aspect	Liquide
La couleur	Bleu
Type	Pigment
Conservation	à T=4 °C
Solubilité	Soluble
Toxicité	Faible

La phycocyanine est caractérisée aussi par un spectromètre UV Visible pour déterminer la longueur d'onde, le domaine d'absorbance est  $\lambda = 620$  nm.

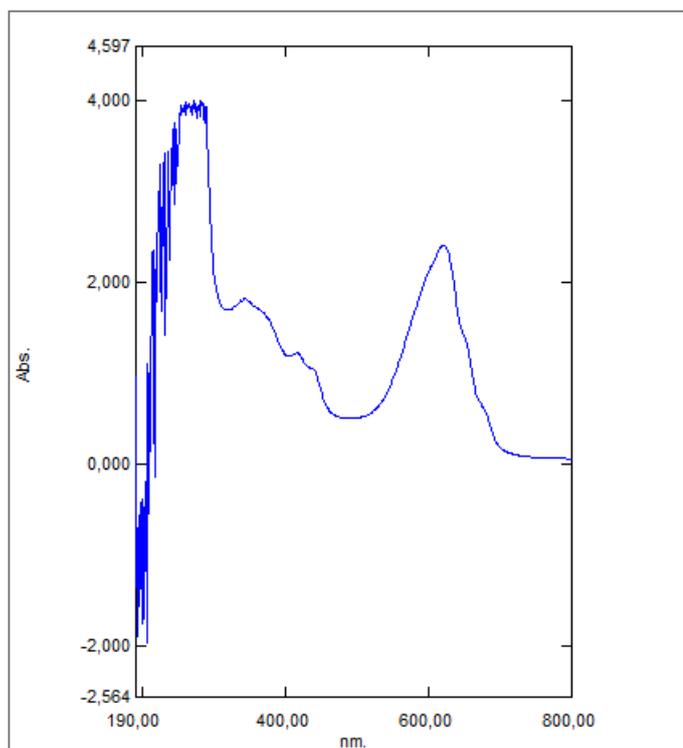


Figure III.3 : Spectre UV Visible du phycocyanine.

### III.3 Caractérisation de film et de la poudre chitosane / Phycocyanine

Dans cette partie du travail, nous avons préparé deux matériaux, un film dont on a greffé la phycocyanine sur le chitosane et une poudre dont on a adsorbé de la phycocyanine sur le chitosane.

Le greffage de la phycocyanine a été réalisé selon une réaction chimique (soit une réaction d'estérification entre les groupements COOH de la phycocyanine et les groupements OH du chitosane, soit une réaction d'amidation, ou autre).

Le film a été caractérisé par la DRX et le FTIR-ATR.

#### III.3.1 Résultats d'analyses de film par diffraction de rayons X (DRX)

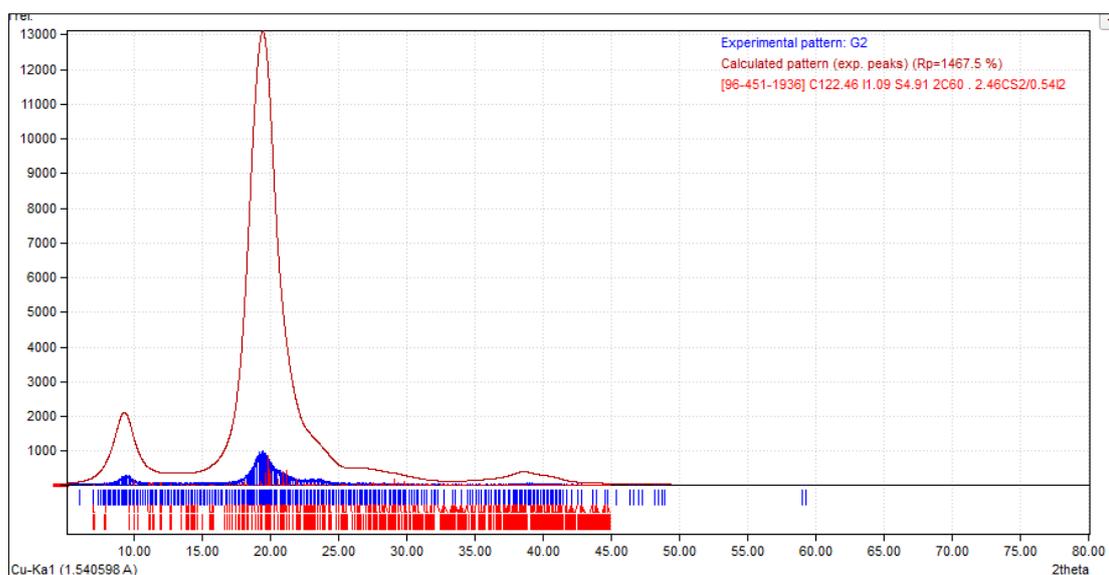


Figure III.4 diffractomètre de film (NSC – C-PC)

On remarque que le chitosane extrait montre un pic intense de réflexion autour de  $2\theta=20^\circ$  dans le rang de  $2\theta=15$  à  $40^\circ$ , ce pic explique la valeur de degré de désacétylation du chitosane extrait.

Le Diffractogramme montre la cristallinité de chitosane et la diminution de l'intensité de réflexion du pic extrait indique la diminution des acétamides.

L'indice de cristallinité atteint donc 84.61% pour le film (NSC-CPC) .Par comparaison avec **Figure III.1** : nous constatons une diminution de l'intensité de réflexion, cela indique que il y'a modification chimique du chitosane.

#### III.3.2 Analyse du film par la spectroscopie Infrarouge couplé à l'ATR (FTIR-ATR)

Le spectre FTIR-ATR du film Chitosane/ phycocyanine est représenté dans la figure III.5. Après la modification, les principales bandes spécifiques du chitosane apparaissent dans le spectre du film.

Néanmoins, nous remarquons l'apparition d'une bande large vers 2400 -2600  $\text{cm}^{-1}$ , dues à la formation des interactions électrostatiques entre la fonction  $\text{NH}_2$  du chitosane et le groupement  $\text{COOH}$  de la phycocyanine.

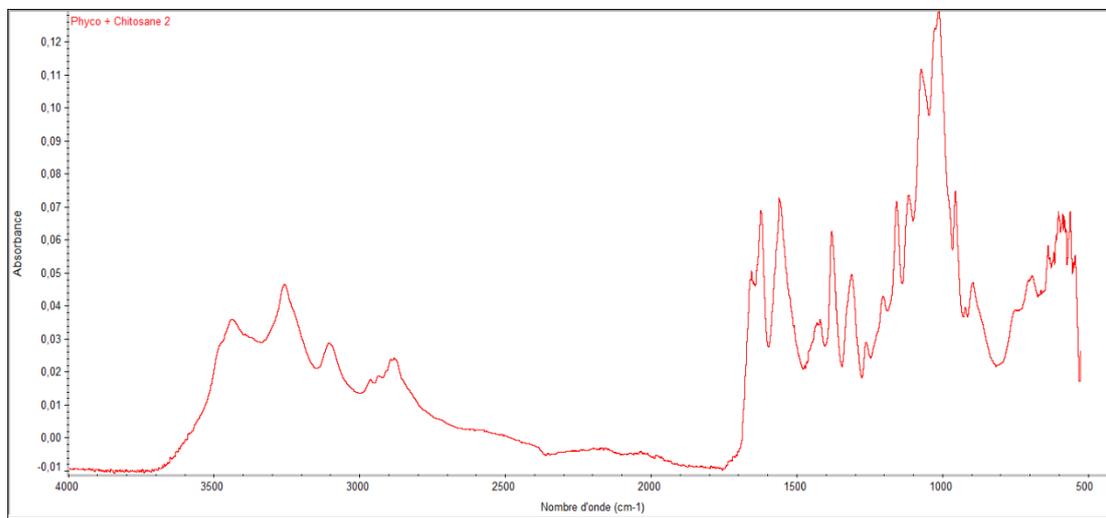


Figure III.5 : spectre IR de film (NSC – C-PC).

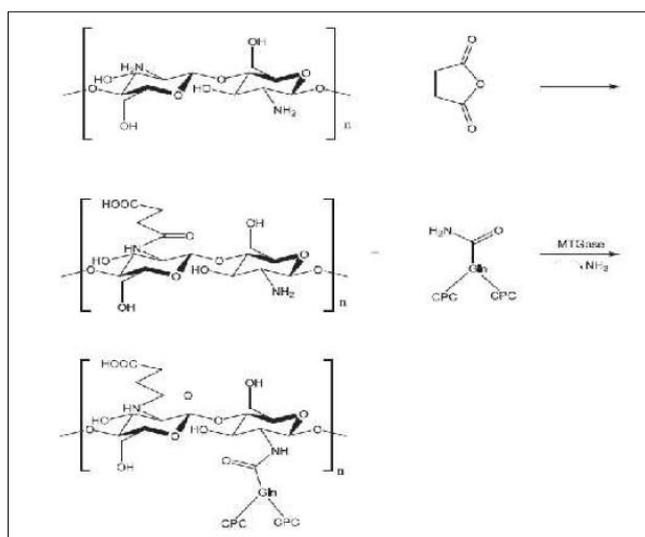


Figure III.6 : la formule des interactions entre chitosane et phycocyanine  $\text{COOH} \cdots \text{NH}_2$ .

### III.3.3 Etude de l'adsorption de la phycocyanine sur la poudre

Dans cette partie, nous avons réalisé l'adsorption de la phycocyanine sur le chitosane avec différents pourcentages 1% 2% et 5%.

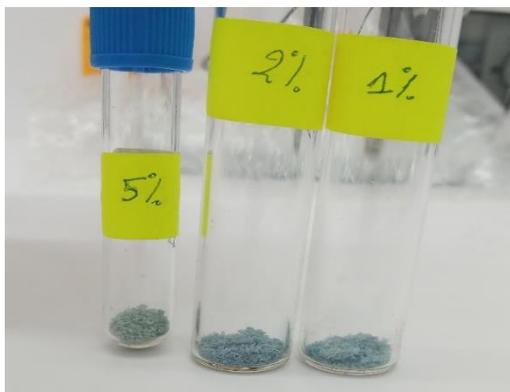


Figure III.7 : les différents matériaux obtenus.

### III.4. Application du film et de la poudre dans la photodégradation du méthyle orange

#### III.4.1. Tests de la photodégradation sur les poudres

Avant chaque étape de photodégradation, les différentes poudres et films sont mises en contact avec la solution polluante dans l'obscurité, afin d'établir l'équilibre adsorption – désorption durant 24 heures.

Nous avons réalisé des tests de photodégradation d'un colorant anionique le méthyle orange sur la poudre contenant 1% en phycocyanine.

Les résultats de la cinétique de photodégradation à un pH=7.40, sont résumés dans le **Tableau III.3** : Les résultats de la cinétique de la photodégradation et dans la figure III.7.

t (min)	90	120	150	180	210	240
R%	27.57	32.47	34.06	36.02	33.67	32.84

Nous constatons que la photodégradation est lente, elle atteint une valeur maximale de [32%] après 180 min d'exposition à la lumière

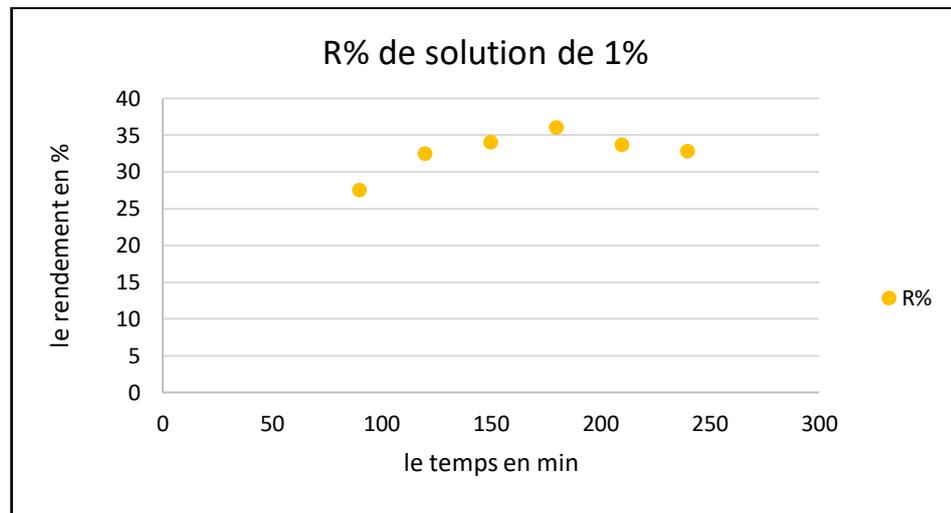


Figure III.8 : Le rendement en fonction du temps pour la solution de 1%.

#### III.4.2. Tests de la photodégradation sur le film

Avant chaque étape de photodégradation, le film a mise en contact avec la solution polluante dans l'obscurité, afin d'établir l'équilibre adsorption –désorption durant 24 heures.

Nous avons réalisé des tests de photodégradation d'un colorant anionique le méthyle orange sur le film.

Les résultats de la cinétique de photodégradation à un pH = 7.40, sont résumés dans le tableau III.4 et dans la figure III.8.

**Tableau III.4** : Les résultats de la cinétique de la photodégradation

t (min)	60	90	120	150	180	210	240
R%	5.43	7.88	9.78	15.21	20.51	21.02	23.09

Les résultats de la photodégradation par le film (NSC-C-PC) sont donnés dans la courbe au-dessus. Selon ces résultats on a observé que le rendement augmente de [5.43% à 23.09%] en fonction de temps au-delà de cette valeur le rendement est stabilisée à la valeur maximale [23.09 %] ce qui signifie la dégradation du colorant le méthyle orange.

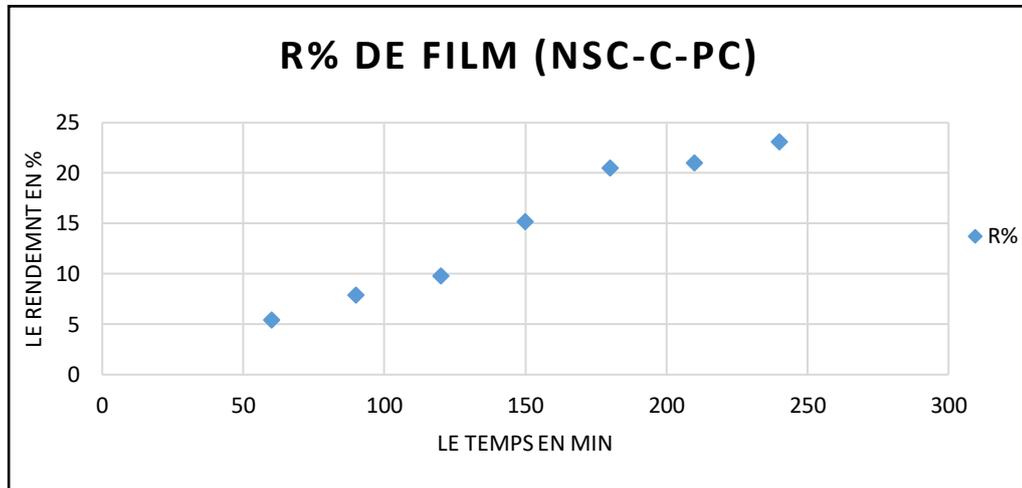


Figure III.9 : le rendement en fonction de temps pour le film.

Par comparaison, le rendement de dégradation de la poudre est [32%] par contre le rendement de dégradation du film est [23.09 %]. Cela montre que l'efficacité de poudre est meilleure par rapport au film.

## Conclusion générale

L'objectif principal de ce travail, était la mise en forme d'un matériau en utilisant un biopolymère d'origine marine, le chitosane et un produit naturel, la phycocyanine isolée d'une cyanobactérie en vue de l'utiliser comme un support naturel dans la photodégradation de méthyle orange, un colorant anionique choisi comme modèle de polluant organique.

Ainsi, le présent travail avait trois parties principales. La première s'est focalisée sur la valorisation des sous-produits marins, les carapaces de crevettes, pour extraire la chitine qui est transformé chimiquement par désacétylation en chitosane. La deuxième partie concerne l'extraction de la phycocyanine à partir de la spiruline platensis par sonification. En troisième partie, la préparation des films à base du chitosane sur lequel nous avons greffé sur la phycocyanine, préalablement formées et caractérisées par spectroscopie infrarouge FTIR et par diffraction des rayons-X DRX sont utilisées par suite dans l'élimination du méthyle orange par la photodégradation.

Les carapaces de crevettes ont servi de source pour la synthèse du chitosane après une succession de plusieurs étapes : la déminéralisation, la déprotéinisation. Ces traitements ont conduit à l'extraction de la chitine, laquelle est transformée par voie chimique en chitosane, après une réaction de désacétylation par une solution d'hydroxyde de sodium concentrée. Le chitosane obtenu est caractérisé par un degré de désacétylation de 81.61%.

Pour la bonne condition de l'extraction à partir de la spiruline. On a choisie l'extraction par ultrason, c'est une technique rapide et simple, en utilisant le phosphate tampon comme solvant.

On a valorisé propriété photosensibilisantes de la phycocyanine pour faire une application dans le domaine de la photodégradation des polluants organiques, pour éviter la solubilité de la phycocyanine dans les milieux aqueux, on a utilisé un biopolymère biodégradable tel que le chitosane. Enfin, on a réalisé un greffage pour la dégradation d'un colorant anionique le méthyle orange avec une valeur maximale atteint [23.09%] après 240 min.

Le test de la photodégradation de méthyle orange sur la poudre contenant 1% de la phycocyanine est lente, elle atteint une valeur maximale de [32%] après 180min d'exposition de la lumière.

Enfin, cette étude a mis en évidence la possibilité d'utiliser le chitosane et la phycocyanine comme adsorbants d'un polluant organique après modification. Cependant, certaines améliorations ou études complémentaires doivent être réalisées.

## Références bibliographiques

- [1] : Teddy Makuba Sunda\*, Nicolas Kalulumuzele Taba et Papy Mola Mbala Contribution à l'étude de la désinfection de l'eau par photosensibilisation avec des extraits de plantes Université de Kinshasa, Faculté des Sciences, Département de chimie article 02/2017
- [2] : Sébastien aubert : Nouveaux photosensibilisantes pour la thérapie photodynamique thèse de doctorat 29 août 2000 P25
- [3] : Jihene Ammar1\*, lamia trabelsi 1 et Hatem ben Ouada1 La phycocyanine : Production, Clarification et Photostabilité 1, Laboratoire de biodiversité et biotechnologie marine, institut nationale des sciences et technologies de la mer, centre de Monastir.
- [4] : Madame Ahounou Morènikè Nadège La spiruline : un complément alimentaire en conseil à l'officine. Enquête d'utilisation. Thèse de doctorat 2018 p 12-13
- [5] : B. Branger a,\* , J.L. Cadudal b , M. Delobel c , H. Ouoba d , P. Yameogo a,†, D. Ouedraogo e , D. Guerin f , A. Valea g , les personnels des CREN h , C. Zombre i , P. Ancel La spiruline comme complément alimentaire dans la malnutrition du nourrisson au Burkina-Faso Spiruline as a food supplement in case of infant malnutrition in Burkina-Faso 2003 p 425
- [6] : Jacquet J. Étude de la flore dans une préparation de spiruline. Ann Nutr Aliment 1975 ; 6:589–601.
- [7] : Von Der Weid D. La spiruline fait des miracles. PROSI Magasine 2000 381. Site internet <http://www.prosi.net/mag2000/381oct/spiru381.htm>. Consulté le 20 mai 2002.
- [8] : Dupire J. Objectif : malnutrition. Paris :Similia; 1998.
- [9] : Gustafson KR, Cardellina JH, Fuller RW. AIDS-antiviral sulfolipids from cyanobacterai (blue-green algae). J National Cancer Institut 1989 ; 81:1254–8.
- [10] : Bennouh kaouthar et Rezig Ibtissam Conduite de la culture et production de la spiruline sous abri en palmeraie mémoire de master /06/2015 P07
- [11] : Sébastien sguera : spiruline platensis et ses constituants intérêts nutritionnels et activités thérapeutiques thèse de doctorat 12 décembre 2008 p 24
- [12] : Australian government, Department of Health and Ageing Therapeutic. Compositional guideline, Arthrospira platensis. [www.tga.gov.au/docs/html/compguid/platensis.htm](http://www.tga.gov.au/docs/html/compguid/platensis.htm), page consultée le 05 décembre 2006.
- [13] : Babadzhanov A.S., Abdusamatova N., Yusupova F.M., Faizullaeva N., Mezhlumyan L.G. and malikovam.Kh. Chemical composition of Spirulina platensis cultivated in Uzbekistan. Chemistry of Natural Compounds. 2004 ; 40 (3): p. 276-279.

- [14] : Audrey Manet , la spiruline : indications thérapeutiques, risques sanitaires et conseils à l'officine mémoire de Doctorat , 27 juin 2016 p 20
- [15] : Toudert Mebarka et Bouzidi Ounissa, Intérêt de l'utilisation de la spiruline dans les aliments fonctionnels mémoire de master : 30 / 09/2020 p 24-25
- [16] : Mme Lahoucine Halima Amina Etude de l'impact de l'incorporation de la Spiruline sur la qualité organoleptique et physicochimique de la Mayonnaise mémoire de master 11/07/2019 p06
- [17] : Jean-Paul Vicat, Jean-Claude Doumnang Mbaigane, Nadjilem Dingamtar Ndjadode, Roland Guideal, Yves Bellion Teneurs en éléments majeurs et traces de spirulines (*Arthrospira platensis*) originaires de France, Madagascar, Inde, Costa Rica et Equateur, *Algerian J. Nat. Products*, 4:2 (2016) 292-298.
- [18] : Ben Messaoud Elkhansa, Seddiki Ferdaws, Contribution à l'étude d'une algue *Arthrospira platensis* « Spiruline sp » mémoire : master academique : 2018/2019 p15-16-17
- [19]: Romay C. Armesto J., Ramirez D, González R, Ledon N. and Garcia L; (1998) Antioxidant and anti-inflammatory properties of C-phycoerythrin from blue-green algae; *Inflammation Research*; 47(1) 36-41.
- [20] : Romay C., Armesto J., Ramirez D., González R., Ledon N. and García I. Antioxidant and anti-inflammatory properties of C-phycoerythrin from blue-green algae. *Inflammation Research*. Janvier 1998 ; 47(1): p. 36-41.
- [21]: AN Glazer: Phycobilisome à macromolecular complex optimized for light energy transfer; *Biochimica et biophysica acta (BBA); Reviews on Bioenergetics*; 768: no. 1; pp. 29-51. (1984)
- [22] : LJ Yu, YM Li, YL Chen et EX Zhang {Études sur la phycobiliprotéine de la spiruline *platensis* pour sa purification et sa capacité à piéger le radical oxygène actif ; *Journal of Oceanography in Taiwan Strait* ; (1999) ,18 ; non. 2 ; pp. 168-171.
- [23]: Ratanachaiklahan, nattayapornchirasuwanboosyabunnag ; stability of PC extracted from *Spirulina SP*: Influence of Temperature pH and preservative; *process biochemistry*; ( 2012) , 47, 659-664 .
- [24]: D. Ramirez, R. Gonzalez, N. Merino, S. Rodriguez, and O. Ancheta ; Inhibitory effects of *Spirulina* in zymosan-induced arthritis in mice; *Mediators of inflammation*; (2002) 11, no. 2, pp. 75-79.
- [25]: C. Romay, R. Gonzalez, N. Ledén, D. Ramirez, and V. Rimbau; C-Phycocyanin: a biliprotein with antioxidant, anti-inflammatory and neuro protective effects; *Current Protein and Peptide Science*; (2003) 4, no. 3:pp. 207-216.

- [26]: C. Romay, N. Ledon, and R. Gonzalez; Effects of phycocyanin extract on prostaglandin E2 levels in mouse ear inflammation test; *Arzneimittel-Forschung*; (2000),50, no. 12; pp. 1106-1109.
- [27]: BB Vadiraja, NW Gaikwad, et KM Madyastha :Effet hépatoprotecteur de la C phycocyanine: protection du tétrachlorure de carbone et de hépatotoxicité induite par la R - (+) - pulegone chez le rat ; *Biochemical and biophysical research communications* ; (1998), 249, non. 2, pp. 428-431.
- [28]: J. Zheng, T. Inoguchi, . Sasaki et al.; Phycocyanin and phycocyanobiline from spirulina platensis protect against diabetic nephropathy by inhibiting oxidative stress; *American Journal of Physiology—Regulatory Integrative and comparative physiology*: (2013), 304, no. 2; pp. R110-R120.
- [29]: Bennett, A. and Bogorad, L. Complimentary Chromatic Adaptation in a Filamentous Blue-Green Alga. *The Journal of Cell Biology*, (1973),58, 419 -435.
- [30]: Lafri imène , optimisation des méthodes d'extraction de la phycocyanine à partir de la spiruline HTAM thèse de Doctorat septembre 2018, P73-74
- [31]: Chen, T., Wong, Y.S., and Zheng, W., Purification and characterization of selenium-containing phycocyanin from selenium-enriched *Spirulina platensis*. *Phytochemistry* (2006). 67(22): 2424-2430.
- [32]:Bulgariu, L., and Bulgariu, D., Cd (1) extraction in PEG (1550)-(NH):50, aqueous two-phasic systems using \_halide extractants. .. *Serb. Chem. Soe.* (2008). 73 (3) 341 350.
- [33]: Pottcher F. Procédé d'extraction et de stabilisation \_de \_phycocyanine et ses applications. (2014). WO 2014045177 A1
- [34]: Production of phycocyanin—a pigment with applications in biology, biotechnology, foods and medicine article 01 août 2008
- [35]: J-A. Lui, Y.-Z. Hu, et L-J. Jiang ; Action photodynamique des phycobiliprotéines: génération in situ d'espèces réactives de l'oxygène :*Biochimica et Biophysica Acta-Bioenergetics* ; (1997) ,1320 ; non. 2 ; pp. 165-174.
- [36]: NC Morcos, M. Berns, et WL Henry ; Phycocyanin activation laser, les effets cytotoxiques, et 'absorption dans la plaque d'athérosclérose humaine ; *Lasers in Surgery and Medicine* ; (1988) ,8, non. 1 ; pp. 10-17.
- [37]: Y. Tan, B. Huang, YM Ren, et KM Liu : étude expérimentale sur le flet de la sous-unité phycocyanine sur l'infiltration cellulaire et l'effet sensible à la lumière sur les cellules tumorales ; *Acta Laser biologisica* ; (2007) no. 6, pp. 684-688.

- [38]: B. Li, XM Chu et MH Gao ; Traitement de la tumeur Hela chez la souris avec la thérapie photodynamique & médiation par la c-phycoyanine et son mécanisme immunitaire sous-tendant 'apoptose ;Journal chinois de médecine et de chirurgie du laser ; (2011). 20, non. 1, pp. 1-6, 65.
- [39]: Tharanathan R.N. Biodegradable films and composite coatings: Past, present and future. Trends in Food Science and Technology. (2003). (14) 71-78.
- [40] : Taouint aissa nadjia. «Préparation de chitosane à partir de la biomasse marine. Application au conditionnement des boues urbaines ».Thèse de Magister. Université de Tizi-Zou. (2016).
- [41] : abdulhadi aljawish. « Fonctionnalisation enzymatique du chitosane par des composés phénoliques : évaluation des propriétés biologiques et physicochimiques de ces nouveaux biopolymères ».Thèse de doctorat. Université de Lorraine. (2013).
- [42]: Muzzarelli R.A.A., Jeuniaux C. and Gooday G.W. Chitin in Nature and Technology. New York: Plenum Publishing Corporation. (1986).
- [43] : Gregorio Crini; Pierre-Marie Badot et Eric Guibal. « Chitine et chitosane du biopolymère à l'application ».Université de Franche-Comté.
- [44] : Chachou Fatima «synthèse de la magadiite et des composites magadiite-polysaccharides –Tests antibactériens ».Thèse de Magister. Université d'Oran. (2014)
- [45] :Pa J.H. and Yu T.L. Light scattering study of chitosan in acetic acid aqueous solutions. Macromolecular Chemistry and Physics. (2001). (202) 985-991.
- [46]: Crini G. Non-conventional low-cost adsorbents for dye removal: A review. Bio resource Technology. (2006). (97) 1061-1085.
- [47]: Domard A.and Piron E. (2000). Recent approach of metal binding by chitosan and derivatives. Advances in Chitin science. (2000).(4) 295-301.
- [48]: Kurita K. Chitin and chitosan: Functional biopolymers from marine crustaceans. Marine Biotechnology. (2006). (8) 203-226.
- [49]:Thanou M. and Junginger H. Pharmaceutical applications of chitosan and derivatives in: Polysaccharide, Structural diversity and functional versatility New York: Marcel Dekker 2ed. (2005). 661-670.
- [50]:Vinsova J. and Vavrikova E. Chitosan Derivatives with Antimicrobial, Antitumour and Antioxidant Activities - a Review. Current Pharmaceutical Design. (2011). (17) 3596-3607
- [51] :Pasanphan W., Buettner G.R. and Chirachanchai S. Chitosan gallate as a novel potential polysaccharide antioxidant: an EPR study. Carbohydrate Research. (2010). (345) 132-140

- [52] :Kim S.K. and Rajapakse N. Enzymatic production and biological activities of chitosan oligosaccharides (COS): A review. *Carbohydrate Polymers*. (2005). (62) 357-368.
- [53] :Blackwell J: Chitin in: *Biopolymers*. Walton AG Blackwell J. Eds. New York: Academic press (1973). 474.
- [54] :Tolaimate A, Desbrières J, Rhazi M, Alagui A, Contribution to the preparation of chitins and chitosans with controlled physico-chemical properties. *Polymer*, 44(26):7939- 7952 Washington: Hemisphere P (284-311). 2003.
- [55] : Kim S. K.: Chitin, chitosan, oligosaccharides and their derivative: Biological activities and applications; CRC Press, Taylor & Francis Group. (2011).
- [56] :Truong,T; Hausher,F; Monette,F ; Niquette,P « Valorisation des résidus industriels de pêches pour la transformation de chitosane par technique hydro thermo chimique ». *Revue de science de l'eau*. Université du Québec. (2007)
- [57] : No H.K, Meyers S.P., and Lee K.S : Isolation and characterization of chitin from crawfish shell waste. *J. Of Agric. And Food chem*. (1989) , (37) 575-579
- [58] : Onsoyen , E. Et Skaugrud, O. : Metal Recovery Using Chitosan, *Journal of Chemical technolony biotechnolony*, 49(2), 395-404.pharmaceutical science, 3(3), H.S3003-3371. Paramètres agronomiques. *Vecteur environment*, (1990). 40 (4): 48-52.
- [59] :Shahidi F ;Abuzaytoun R. « Chitin ,chitosane and co-products :chemistry, production, applications and health effects ». *Adv. Foonutr.Res*, (2005) , 49.93-135.
- [60] : Jacques Desbrière. <https://www.lactualitechimique.org/Chitine-et-chitosane>
- [61]:P.S. Bakshia, D. Selvalumara, K. Kadirvelub, N.S. Kumara :Chitosan as an environment friendly biomaterial \_a review on recent modifications and applications : *International Journal of Biological Macromolecules* . (2019).
- [62] : Ferandon. O, G. Mas, M.T. Waais, *Tribune de l'Eau* 51 -25, 1998.
- [63]: M. EL Azzouzi; *Persistance, mobilité et photodégradation de l'imazapyr dans le sol et l'eau ; Thèse de doctorat d'état ; Université Mohammed V-Agdal Rabat-Maroc*(1999).
- [64]: P.M. Badot, G. Crini; *Traitement et épuration des eaux industrielles polluées: Procédés Membranaires, bioadsorption et oxydation chimique ; Presses Université Franche – Comté ;* (2007)339.
- [65] : E.Aguila-Almanza,Sze Shin Low and al : facile and green approach in managing sand crab carapace biowaste for obtention of high deacetylation percentage chitosan ,*Journal of environmental chemical engineering* 9 (2021)10522

- [66] : Claude Yéprémian, Arnaud Catherine, Cécile Bernard, Roberta Congestri, Tina Elersek, Renata Pilkaityte : Phycocyanin Extraction and Determination, Book Editor(s):Jussi Meriluoto, Lisa Spooft, Geoffrey A. Codd 20 December 2016 .
- [67]: Site web: <https://www.hielscher.com/fr/ultrasonic-algae-extraction-for-nutritional-supplements.htm>
- [68] : Randriamanalina Jimmy Etude, Étude, conception et réalisation des travaux d'installation d'une séparatrice centrifugeuse de gasoil à la centrale thermique de la S.E.C.R.E.N S.A : mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme d'ingénieur le 07 juin 2009 p09
- [69] : Rahim Mohamed, Etude de la réaction d'estérification magister en génie des procédés option génie des matériaux , Université 08 mai 1945 Guelma en 2011.
- [70]: W.S.W.Ngah and S. Fatinathan: adsorption of cu (II) ions in aqueous solution using chitosan beads, chitosan- GLA beads and chitosan-alginate beads. Chemical engineering journal, (2008). 143, 62, 72.
- [71]: Dahmani khalida Zadi khadra : Synthèse, caractérisation et modification du chitosane. Application dans l'élimination du bleu de méthylène par adsorption. Mémoire de fin d'étude d'obtention diplôme de master en génie des procédés, Université Akli mohand oulhadj-bouira 2018/2019.
- [72] : Haidra Fatima : Préparation de chitosane à partir de crustacés locaux et son emploi dans la coagulation-floculation de suspensions de bentonite mémoire de master 2018 p10
- [73] : Yang, T.c. Et R. R. Zall. «Absorption of Metals by Natural Polymers Generated from Seafood Processing Wastes». Industry. Eng. Chem. Product Res. Develop., 1984.
- [74]: Renata Czechowska-Biskup, Diana Jarosinska, Bozena Rokita, Piotrulanski, Janusz M. Rosiak. Determination of degree of deacetylation of chitosan-comparison of methods. Progress on chemistry and application of chitin and, XVII, (2012). P: (5-20).
- [75] : Duval M. Et Olivier F. Isolation et valorisation des constituants de la carapace de la crevette blanche. Mémoire de maître science (M.sc.). Faculté des Sciences de l'Agriculture et de l'alimentation. Université LAVAL Québec. 2008.
- [76]: Y.W.Ch,J.C.R. Park et S.W.K.O. Preparation and solubility in acid and water of partially Deacetylated chitins,Biomacromolecules.2000,p:(1.609-614)
- [77]: Vino, A.B.; Ramasamy, P.; Shanmugam, V.; Shanmugam, A. Extraction, characterization and in vitro antioxidative potential of chitosan and sulfated chitosan from Cuttlebone of Sepia aculeate Orbigny, 1848. Asian. Pac. J. Trop. Biomed. 2012, 2, S334–S341

[78]: Song, C.; Yu, H.; Zhang, M.; Yang, Y.; Zhang, G. Physicochemical properties and antioxidant activity of chitosan from the blowfly *Chrysomya megacephala* larvae. *Int. J. Biol. Macromol.* 2013, 60, 347–354.

[79]: Lim, S.H.; Hudson, S.M. Synthesis and antimicrobial activity of a water-soluble chitosan derivative with a fiber-reactive group. *Carbohydrate. Res.* 2004, 339, 313–319