



(12) **DEMANDE DE BREVET CANADIEN**
CANADIAN PATENT APPLICATION

(13) **A1**

(86) Date de dépôt PCT/PCT Filing Date: 2018/12/13
(87) Date publication PCT/PCT Publication Date: 2019/06/20
(85) Entrée phase nationale/National Entry: 2020/06/01
(86) N° demande PCT/PCT Application No.: FR 2018/053284
(87) N° publication PCT/PCT Publication No.: 2019/115969
(30) Priorité/Priority: 2017/12/15 (FR1762303)

(51) Cl.Int./Int.Cl. *C08B 37/08* (2006.01),
C08B 37/00 (2006.01), *C08L 5/08* (2006.01)
(71) Demandeur/Applicant:
YNSECT, FR
(72) Inventeurs/Inventors:
SOCOLSKY, CECILIA, FR;
LAURENT, SOPHIE, FR;
LORETTE, BENEDICTE, FR;
ALEZRA, VALERIE, FR;
LE BERRE, CORENTIN, FR;
BEREZINA, NATHALIE, FR
(74) Agent: ROBIC

(54) Titre : CHITINE ET PROCEDE D'OBTENTION DE CHITINE ET/OU CHITOSAN PAR VOIE CHIMIQUE
(54) Title: CHITIN AND METHOD FOR CHEMICALLY OBTAINING CHITIN AND/OR CHITOSAN

(57) **Abrégé/Abstract:**

La présente invention se rapporte à une chitine dont la masse moléculaire est supérieure à 855 kg.mol⁻¹ et à un procédé d'obtention de chitine et/ou chitosan par séparation des cuticules de la partie molle de l'insecte et par traitement basique des cuticules.

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la
Propriété Intellectuelle
Bureau international(10) Numéro de publication internationale
WO 2019/115969 A1(43) Date de la publication internationale
20 juin 2019 (20.06.2019)(51) Classification internationale des brevets :
C08B 37/08 (2006.01) C08B 37/00 (2006.01)
C08L 5/08 (2006.01)(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2018/053284**Déclarations en vertu de la règle 4.17 :**

— relative à la qualité d'inventeur (règle 4.17(iv))

(22) Date de dépôt international :
13 décembre 2018 (13.12.2018)**Publiée:**— avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))
— avant l'expiration du délai prévu pour la modification des
revendications, sera republiée si des modifications sont
reçues (règle 48.2(h))

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
1762303 15 décembre 2017 (15.12.2017) FR(71) Déposant : YNSECT [FR/FR] ; 1 Rue Pierre Fontaine,
91058 EVRY CEDEX (FR).(72) Inventeurs : **SOCOLSKY, Cecilia** ; Résidence au Coeur
des Arts, 9 rue Ernest Deconynck, 59800 Lille (FR).
LAURENT, Sophie ; 1 boulevard Alexandre Millerand
Vulcain 1, Apt 147, 44200 NANTES (FR). **LORETTE,
Bénédicte** ; 3 allée Saint Louis, 91310 MONTLHERY
(FR). **ALEZRA, Valérie** ; 125 rue de la Glacière, 75013
PARIS (FR). **LE BERRE, Corentin** ; 24 rue Hoche, 91260
JUVISY-SUR-ORGE (FR). **BEREZINA, Nathalie** ; 3 rue
Monge, 75005 PARIS (FR).(74) Mandataire : **SANTARELLI** ; 49 avenue des Champs-
Élysées, 75008 PARIS (FR).(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de
protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AO,
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA,
CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ,
EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR,
HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR,
KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG,
MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM,
PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC,
SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de
protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH, GM,
KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), eurasién (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM),
européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES,
FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK,
MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI

(54) Title: CHITIN AND METHOD FOR CHEMICALLY OBTAINING CHITIN AND/OR CHITOSAN

(54) Titre : CHITINE ET PROCÉDÉ D'OBTENTION DE CHITINE ET/OU CHITOSAN PAR VOIE CHIMIQUE

(57) Abstract: The present invention relates to a chitin having a molecular mass of more than 855 kg.mol⁻¹ and to a process for obtaining chitin and/or chitosan by separating cuticles from the soft part of the insect and by a basic treatment of the cuticles.(57) Abrégé : La présente invention se rapporte à une chitine dont la masse moléculaire est supérieure à 855 kg.mol⁻¹ et à un procédé d'obtention de chitine et/ou chitosan par séparation des cuticules de la partie molle de l'insecte et par traitement basique des cuticules.

WO 2019/115969 A1

CHITINE ET PROCÉDÉ D'OBTENTION DE CHITINE ET/OU CHITOSAN PAR VOIE CHIMIQUE

La présente invention concerne une chitine, un chitosan ainsi qu'un procédé de préparation de chitine et/ou chitosan à partir d'insectes.

5 Selon l'invention, par « chitine », on entend un polymère composé majoritairement d'unités glucosamine et N-acétyl-glucosamine, lesdites unités pouvant être optionnellement substituées par des acides aminés et/ou des peptides.

Par « composé majoritairement », on entend que ledit polymère comporte entre 55% et 98% en poids, de préférence entre 75 et 90% en poids d'unités glucosamine et
10 N-acétyl-glucosamine.

La chitine serait le deuxième polymère le plus synthétisé dans le monde vivant après la cellulose. En effet, la chitine est synthétisée par de nombreuses espèces du monde vivant : elle constitue en partie l'exosquelette des crustacés et des insectes et la paroi latérale qui entoure et protège les champignons. Plus particulièrement,
15 chez les insectes, la chitine constitue ainsi 3 à 60% de leur exosquelette.

Par « chitosan », on entend selon la présente invention les produits de désacétylation de la chitine. La limite usuelle entre le chitosan et la chitine est déterminée par le degré d'acétylation : un composé ayant un degré d'acétylation inférieur à 50% est nommé chitosan, au-delà, un composé ayant un degré d'acétylation supérieur à 50% est
20 nommé chitine.

Les applications de la chitine et/ou du chitosan sont nombreuses: cosmétique (composition cosmétique), médicale et pharmaceutique (composition pharmaceutique, traitement des brûlures, biomatériaux, pansements cornéens, fils chirurgicaux), diététique et alimentaire (alimentation humaine notamment en œnologie et alimentation
25 animale, plus spécifiquement en aquaculture et aviculture), technique (agent filtrant, texturant, flocculant ou adsorbant notamment pour la filtration et dépollution de l'eau), etc. En effet, la chitine et/ou le chitosan sont des matériaux biocompatibles, biodégradables et non toxiques.

Usuellement, la chitine et le chitosan sont obtenus à partir des différentes
30 espèces synthétisant la chitine, telles que celles citées ci-avant, et notamment à partir de crustacés ou d'insectes.

Il est particulièrement avantageux d'obtenir de la chitine et du chitosan à partir d'insectes, ces derniers représentant une matière première abondante et renouvelable.

L'obtention d'une chitine et/ou d'un chitosan de masse moléculaire élevée est recherchée dans de nombreuses applications, telles que par exemple en cosmétique et en pharmacie.

5 A titre d'exemple, l'utilisation d'un chitosan de masse moléculaire élevée permet de maximiser l'effet antimicrobien, limiter la perte d'eau trans-épidermique ou encore l'irritation de la peau.

Pour obtenir un chitosan de masse moléculaire élevée, il est indispensable d'obtenir, dans un premier temps, une chitine de masse moléculaire élevée.

10 En effet, le chitosan est obtenu par désacétylation de la chitine. Or, cette étape est susceptible de réduire la masse moléculaire de la molécule. Ainsi, plus la chitine aura une masse moléculaire élevée, plus le chitosan obtenu à partir de cette chitine aura une masse moléculaire élevée.

En outre, les techniques actuelles ne permettent pas d'augmenter la masse moléculaire de la chitine et/ou du chitosan, lorsque la chitine et/ou le chitosan obtenu(s)
15 à l'issue d'un procédé a (ont) une masse moléculaire insuffisante pour l'application visée.

L'obtention d'une chitine et/ou d'un chitosan présentant, outre une masse moléculaire élevée, une pureté élevée, est également recherchée, notamment dans le cadre des applications mentionnées ci-avant.

L'invention concerne donc une chitine dont la masse moléculaire est supérieure
20 ou égale à 855 kg.mol^{-1} .

Avantageusement, la masse moléculaire de la chitine selon l'invention est supérieure ou égale à 900 kg.mol^{-1} , de préférence supérieure ou égale à 950 kg.mol^{-1} , plus préférentiellement supérieure ou égale à 1000 kg.mol^{-1} .

La masse moléculaire est déterminée grâce à la mesure de la viscosité par chute
25 de bille.

De préférence, la masse moléculaire est déterminée selon une méthode de mesure de la viscosité par chute de bille basée sur celle décrite dans la publication suivante : « *Pacheco et al. ; Structural characterization of chitin and chitosan obtained by biological and chemical methods ; Biomacromolecules ; 12, 3285-3290, 2011* ».

30 Plus particulièrement, cette méthode est utilisée et décrite dans l'Exemple 1.

Avantageusement, la chitine selon l'invention comporte moins de 1,5% en poids d'acides aminés sur le poids sec total de chitine.

De préférence, la chitine selon l'invention comporte moins de 1% en poids, plus préférentiellement moins de 0,9% en poids, encore plus préférentiellement moins de
35 0,8% en poids, et encore plus préférentiellement moins de 0,7% en poids d'acides

aminés sur le poids sec total de chitine.

Avantageusement, les acides aminés résiduels présents dans la chitine selon l'invention sont : Thréonine, Acide glutamique, Alanine, Cystéine, Valine, Tyrosine, Histidine, Lysine, Tryptophane ou une combinaison de deux ou plus de ceux-ci. De
5 préférence, les acides aminés résiduels présents dans la chitine selon l'invention consistent en : Alanine, Cystéine, Valine, Histidine, Lysine, Tryptophane ou une combinaison de deux ou plus de ceux-ci, préférentiellement en une combinaison de tous ces acides aminés.

La teneur en acides aminés de la chitine selon l'invention est de préférence
10 déterminée selon la méthode NF EN ISO 13904 pour le tryptophane et NF EN ISO 13903 pour les autres acides aminés.

L'abondance relative, exprimée en pourcentage, peut être calculée en rapportant la teneur de chaque acide aminé à la teneur totale en acides aminés.

Dans toute la demande, lorsqu'aucune date n'est précisée pour un règlement,
15 une norme ou une directive, il s'agit du règlement, de la norme ou de la directive en vigueur à la date de dépôt.

Avantageusement, la chitine selon l'invention comporte moins de 3% en poids de cendres sur le poids sec total de chitine.

La chitine selon l'invention comporte de préférence moins de 2,75% en poids,
20 plus préférentiellement moins de 2,5% en poids, encore plus préférentiellement moins de 2% en poids, de manière encore plus préférentielle moins de 1,8% en poids de cendres sur le poids sec total de chitine.

La méthode de détermination de la teneur en cendres est bien connue de l'homme du métier. De préférence, cette teneur est déterminée selon la norme NF V18-
25 101.

Avantageusement, la chitine selon l'invention comporte moins de 1% en poids, de préférence moins de 0,75% en poids, plus préférentiellement moins de 0,5% en poids, encore plus préférentiellement moins de 0,2% en poids de lipides sur le poids sec total de chitine.

30 Encore plus préférentiellement, la chitine selon l'invention ne comporte pas de lipides.

Les méthodes de détermination de la teneur en lipides ou matière grasse sont bien connues de l'homme du métier. A titre d'exemple et de manière préférée, la détermination de cette teneur sera effectuée en suivant la méthode du règlement CE
35 152/2009.

La chitine selon l'invention possède ainsi des teneurs faibles en acides aminés, lipides et cendres, et présente donc une grande pureté.

En effet, dans le cadre de la présente demande, pour mesurer la pureté, les teneurs en impuretés connues, à savoir en acides aminés, lipides et cendres, sont soustraites à la valeur de pureté absolue (100%) pour obtenir la valeur de la pureté
5 estimée par différence. Ainsi, par exemple, un échantillon qui contient 30% d'acides aminés, 10% de lipides et 1% de cendres, se voit dès lors attribuer une pureté par différence de $100-30-10-1=59\%$.

Ainsi, la chitine selon l'invention présente avantageusement une pureté par
10 différence supérieure ou égale à 95%.

De préférence, la chitine selon l'invention a une pureté par différence supérieure ou égale à 96%, de préférence supérieure ou égale à 97%.

De préférence, la chitine selon l'invention est une chitine isolée.

Par chitine « isolée », on entend une chitine qui a été isolée ou extraite de son
15 milieu naturel.

Plus particulièrement, dans le cadre de la présente demande, la chitine est isolée ou extraite d'insectes, plus spécifiquement de cuticules d'insectes.

L'invention concerne en outre un chitosan dont la masse moléculaire est supérieure ou égale à 250 kg.mol^{-1} .

Avantageusement, la masse moléculaire du chitosan selon l'invention est
20 supérieure ou égale à 300 kg.mol^{-1} , de préférence supérieure ou égale à 325 kg.mol^{-1} , plus préférentiellement supérieure ou égale à 350 kg.mol^{-1} .

La masse moléculaire est déterminée de la même manière qu'indiquée ci-avant pour la chitine selon l'invention.

25 Le chitosan selon l'invention présente également une grande pureté.

En effet, le chitosan selon l'invention présente avantageusement une pureté par différence supérieure ou égale à 95%.

De préférence, le chitosan selon l'invention a une pureté par différence supérieure ou égale à 96%, de préférence supérieure ou égale à 97%.

30 La pureté par différence, la teneur en acides aminés, la teneur en cendres, et la teneur en lipides du chitosan selon l'invention sont mesurées de la même manière qu'indiqué ci-avant pour la chitine.

Avantageusement, le chitosan selon l'invention comporte moins de 1,5% en poids d'acides aminés sur le poids sec total de chitosan.

35 De préférence, le chitosan selon l'invention comporte moins de 1% en poids, plus

préférentiellement moins de 0,8% en poids, encore plus préférentiellement moins de 0,5% en poids, encore plus préférentiellement moins de 0,4% en poids d'acides aminés sur le poids sec total de chitosan.

Avantageusement, les acides aminés résiduels présents dans le chitosan selon l'invention sont : Thréonine, Lysine et/ou Tryptophane.

Avantageusement, le chitosan selon l'invention comporte moins de 3% en poids de cendres sur le poids sec total de chitosan.

Le chitosan selon l'invention comporte de préférence moins de 2,75% en poids, plus préférentiellement moins de 2,5% en poids de cendres sur le poids sec total de chitosan.

Avantageusement, le chitosan selon l'invention comporte moins de 1% en poids, de préférence moins de 0,75% en poids, plus préférentiellement moins de 0,5% en poids de lipides sur le poids sec total de chitosan.

De préférence, le chitosan selon l'invention est un chitosan isolé.

Par chitosan « isolé », on entend un chitosan qui a été obtenu à partir d'une chitine isolée ou extraite de son milieu naturel.

Plus particulièrement, dans le cadre de la présente demande, le chitosan est obtenu à partir d'une chitine isolée ou extraite d'insectes, plus spécifiquement de cuticules d'insectes.

L'invention concerne également un procédé d'obtention de chitine et/ou chitosan, à partir d'insectes, comprenant les étapes suivantes :

- la séparation des cuticules de la partie molle des insectes, puis
- le traitement basique des cuticules.

Le procédé d'obtention de chitine et/ou chitosan selon l'invention permet l'obtention d'une chitine et/ou d'un chitosan de masse moléculaire élevée. En outre, la chitine et/ou le chitosan présentent également une pureté, telle qu'une pureté par différence, élevée.

Par « insectes », on entend des insectes à n'importe quel stade de développement, tel qu'un stade adulte, larvaire ou un stade de nymphe (stade intermédiaire). Avantageusement, les insectes mis en œuvre dans le procédé selon l'invention sont à un stade larvaire lorsque les insectes sont des holométaboles, à un stade de nymphe (stade intermédiaire) lorsque les insectes sont des hétérométaboles, ou le cas échéant à un stade adulte.

Les insectes mis en œuvre dans le procédé selon l'invention peuvent être comestibles.

Avantageusement, les insectes préférés pour la mise en œuvre du procédé selon l'invention sont par exemple les coléoptères, les diptères, les lépidoptères (tel que par exemple *Galleria mellonella*), les isoptères, les orthoptères, les hyménoptères, les blattoptères, les hémyptères, les hétéroptères, les éphéméroptères et les mécoptères, de préférence, les coléoptères, les diptères, les orthoptères, les lépidoptères ou leurs mélanges, encore plus préférentiellement les coléoptères.

Les coléoptères préférentiellement mis en œuvre dans le procédé selon l'invention appartiennent aux familles des Tenebrionidae, Melolonthidae, Dermestidae, Coccinellidae, Cerambycidae, Carabidae, Buprestidae, Cetoniidae, Dryophthoridae, ou leurs mélanges.

Plus préférentiellement, il s'agit des coléoptères suivants : *Tenebrio molitor*, *Alphitobius diaperinus*, *Zophobas morio*, *Tenebrio obscurus*, *Tribolium castaneum*, *Pachnoda marginata* et *Rhynchophorus ferrugineus*, ou leurs mélanges. Encore plus préférentiellement, il s'agit de *Tenebrio molitor*.

Le procédé d'obtention de chitine et/ou chitosan selon l'invention comprend une étape de séparation des cuticules de la partie molle des insectes.

La cuticule est la couche externe (ou exosquelette) sécrétée par l'épiderme des insectes. Elle est en général formée de trois couches : l'épicuticule, l'exocuticule et l'endocuticule.

Par « partie molle », on vise la chair (comportant notamment les muscles et les viscères) et le jus (comportant notamment les liquides biologiques, l'eau et l'hémolymphe) des insectes. En particulier, la partie molle ne consiste pas en le jus des insectes.

La séparation des cuticules de la partie molle des insectes peut être effectuée à l'aide de tout type de séparateur adapté.

Selon un premier mode de réalisation, la séparation des cuticules de la partie molle est réalisée à l'aide d'un séparateur à bande.

Selon un second mode de réalisation, la séparation des cuticules de la partie molle est réalisée à l'aide d'un filtre presse.

Cette étape de séparation des cuticules de la partie molle des insectes est plus amplement décrite dans l'étape 2 du procédé détaillé d'obtention de chitine et/ou chitosan selon l'invention ci-après.

Cette séparation des cuticules de la partie molle de l'insecte permet notamment de séparer la chitine de la partie molle. En effet, les cuticules obtenues à l'issue de cette étape de séparation présentent une teneur en chitine élevée de l'ordre de 10 à 30% en

poids sur le poids total de cuticules, comme indiqué ci-après.

En particulier, l'étape de séparation des cuticules de la partie molle s'effectue sans qu'aucune étape préalable de broyage des insectes, notamment sous forme de particules, n'ait été effectuée.

- 5 Le procédé d'obtention de chitine et/ou chitosan selon l'invention comprend avantageusement une étape d'abattage préalable à l'étape de séparation des cuticules de la partie molle.

Cette étape d'abattage est plus amplement décrite dans l'étape 1 du procédé détaillé d'obtention de chitine et/ou chitosan selon l'invention ci-après.

- 10 Avantageusement, suite à l'étape 1 d'abattage, les insectes sont directement utilisés pour la mise en œuvre de l'étape 2 de séparation des cuticules de la partie molle des insectes, c'est-à-dire que les insectes ne sont soumis à aucun traitement, tel qu'un broyage, une congélation ou une déshydratation entre l'étape 1 et l'étape 2.

- Le procédé d'obtention de chitine et/ou chitosan selon l'invention comprend une
15 étape de traitement basique des cuticules, suite à l'étape de séparation des cuticules de la partie molle des insectes.

Avantageusement, le traitement basique est réalisé à l'aide d'une base forte.

- Avantageusement, la base forte est choisie parmi l'hydroxyde de sodium ou soude, de potassium, et d'ammonium. De préférence, la base forte est l'hydroxyde de
20 sodium.

De préférence, la base utilisée pour le traitement basique est sous forme d'une solution basique aqueuse.

- Dans ce cas, la concentration molaire de la base en solution aqueuse est avantageusement comprise entre 0,1 et 5 mol.L⁻¹, de préférence comprise entre 0,5 et
25 2 mol.L⁻¹, encore plus préférentiellement égale à 1 mol.L⁻¹ (par exemple soude molaire).

On notera que dans le cadre de la présente demande, et sauf stipulation contraire, les gammes de valeurs indiquées s'entendent bornes incluses.

- De préférence, la concentration de la base est ajustée de manière à obtenir un ratio base en poids sec en g : cuticules en poids sec en g : eau en poids en g compris
30 entre 0,4 : 0,45 : 10 et 1,4 : 0,45 : 30, plus préférentiellement 0,4 : 0,45 : 10 et 1,2 : 0,45 : 30, encore plus préférentiellement d'environ 0,9 : 0,45 : 22. Les valeurs plus préférées sont notamment celles à mettre en œuvre lors de l'utilisation d'hydroxyde de sodium.

- Cette étape de traitement basique des cuticules est plus amplement décrite dans l'étape 3 du procédé détaillé d'obtention de chitine et/ou chitosan selon l'invention ci-
35 après.

Avantageusement, l'étape de traitement basique des cuticules est suivie d'une étape de récupération de la chitine.

Cette étape de récupération de la chitine est plus amplement décrite dans l'étape 4 du procédé détaillé d'obtention de chitine et/ou chitosan selon l'invention ci-après.

5 Optionnellement, le procédé d'obtention de chitine et/ou chitosan selon l'invention comprend en outre une étape de lavage de la chitine.

Cette étape optionnelle de lavage de la chitine est plus amplement décrite dans l'étape 5 du procédé détaillé d'obtention de chitine et/ou chitosan selon l'invention ci-après.

10 Optionnellement, le procédé d'obtention de chitine et/ou chitosan selon l'invention comprend en outre une étape de séchage de la chitine.

Cette étape optionnelle de séchage de la chitine est plus amplement décrite dans l'étape 6 du procédé détaillé d'obtention de chitine et/ou chitosan selon l'invention ci-après.

15 La chitine pouvant être commercialisée sous forme de poudre, le procédé d'obtention de chitine et/ou chitosan selon l'invention peut optionnellement comprendre une étape de broyage de la chitine.

20 Cette étape optionnelle de broyage de la chitine est plus amplement décrite dans l'étape 7 du procédé détaillé d'obtention de chitine et/ou chitosan selon l'invention ci-après.

L'étape de broyage peut également être effectuée afin de favoriser la réaction de désacétylation, qui permet de préparer du chitosan à partir de chitine.

L'étape de désacétylation, qui vise à transformer la chitine en chitosan, n'est donc mise en œuvre que lorsque le produit souhaité est le chitosan.

25 Cette étape de désacétylation de la chitine est plus amplement décrite à l'étape 8 du procédé détaillé d'obtention de chitine et/ou chitosan selon l'invention ci-après.

Avantageusement, l'étape de désacétylation de la chitine est suivie d'une étape de récupération du chitosan.

30 Cette étape de récupération du chitosan est plus amplement décrite dans l'étape 9 du procédé détaillé d'obtention de chitine et/ou chitosan selon l'invention ci-après.

Optionnellement, le procédé d'obtention de chitine et/ou chitosan selon l'invention comprend en outre une étape de lavage du chitosan.

35 Cette étape optionnelle de lavage du chitosan est plus amplement décrite dans l'étape 10 du procédé détaillé d'obtention de chitine et/ou chitosan selon l'invention ci-après.

Optionnellement, le procédé d'obtention de chitine et/ou chitosan selon l'invention comprend en outre une étape de séchage du chitosan.

Cette étape optionnelle de séchage du chitosan est plus amplement décrite à l'étape 11 du procédé détaillé d'obtention de chitine et/ou chitosan selon l'invention ci-après.

De préférence, les procédés d'obtention de chitine et/ou de chitosan selon l'invention ne comprennent pas d'étape réalisée à un pH inférieur à 6.

On notera que les étapes 5 à 7, 10 et 11 mentionnées ci-avant, et décrites plus amplement dans le procédé détaillé d'obtention de chitine et/ou chitosan selon l'invention ci-après, sont optionnelles. Toutefois, le procédé d'obtention de chitine et/ou chitosan selon l'invention comprend avantageusement une ou plusieurs de ces étapes, de préférence toutes ces étapes.

On notera par ailleurs que les caractéristiques des étapes 1 à 11 du procédé détaillé d'obtention de chitine et/ou chitosan selon l'invention, qui sont décrites ci-après, ne sont pas limitées à une mise en œuvre dans ledit procédé détaillé, mais s'appliquent à tous les modes de réalisation du procédé d'obtention de chitine et/ou chitosan selon l'invention décrits dans la présente demande, indépendamment du nombre d'étapes prévu dans ces modes de réalisation.

Ces caractéristiques s'appliquent également à un procédé particulier d'obtention de chitine et à un procédé particulier d'obtention de chitosan selon l'invention, décrits ci-après.

L'invention vise donc plus particulièrement un procédé particulier d'obtention de chitine, à partir d'insectes, comprenant les étapes suivantes :

- l'abattage des insectes,
- la séparation des cuticules de la partie molle des insectes,
- le traitement basique des cuticules,
- la récupération de la chitine.

Ce procédé comprend donc les étapes 1 à 4 du procédé détaillé d'obtention de chitine et/ou de chitosan ci-après et avantageusement une ou plusieurs des étapes optionnelles 5 à 7 de ce procédé détaillé.

L'invention concerne également la chitine susceptible d'être obtenue par le procédé d'obtention de chitine et/ou chitosan selon l'invention, ou par le procédé particulier d'obtention de chitine selon l'invention.

L'invention vise donc également un procédé particulier d'obtention de chitosan, à partir d'insectes, comprenant les étapes suivantes :

- l'abattage des insectes,
- la séparation des cuticules de la partie molle des insectes,
- le traitement basique des cuticules,
- la récupération de la chitine,
- 5 - la désacétylation de la chitine, et
- la récupération du chitosan.

Ce procédé comprend donc les étapes 1 à 4, 8 et 9 du procédé détaillé d'obtention de chitine et/ou de chitosan ci-après et avantageusement une ou plusieurs des étapes optionnelles 5 à 7, 10 et 11 de ce procédé détaillé.

10 L'invention concerne également le chitosan susceptible d'être obtenu par le procédé d'obtention de chitine et/ou chitosan selon l'invention, ou par le procédé particulier d'obtention de chitosan selon l'invention.

La chitine et/ou le chitosan selon l'invention ainsi que la chitine et/ou le chitosan susceptible(s) d'être obtenu(s) par un procédé selon l'invention peu(ven)t
15 avantageusement être utilisé(s) dans diverses applications :

- dans des compositions cosmétiques, pharmaceutiques, nutraceutiques ou diététiques,
- comme biomatériaux pour traiter des brûlures en tant que seconde peau, pour réaliser des pansements cornéens ou des fils chirurgicaux,
- 20 - comme agent filtrant, texturant, floculant et/ou adsorbant notamment pour la filtration et dépollution de l'eau.

Procédé détaillé d'obtention de chitine et/ou chitosan selon l'invention

• Etape 1 : Abattage des insectes

25 Cette étape 1 d'abattage peut avantageusement s'effectuer par choc thermique, tel que par ébullantage ou par blanchiment. Cette étape 1 permet d'abattre les insectes tout en abaissant la charge microbienne (réduction du risque d'altération et sanitaire) et en inactivant les enzymes internes des insectes pouvant déclencher une autolyse, et ainsi un brunissement rapide de ceux-ci.

30 Pour l'ébullantage, les insectes, de préférence des larves, sont ainsi ébullantés à l'eau pendant 2 à 20 minutes, préférentiellement, 5 à 15 minutes. De préférence, l'eau est à une température comprise entre 87 à 100°C, préférentiellement 92 à 95°C.

La quantité d'eau introduite lors de l'ébullantage est déterminée de la façon
35 suivante : le ratio du volume d'eau en ml sur le poids en g d'insecte est de préférence

compris entre 0,3 et 10, plus préférentiellement entre 0,5 et 5, encore plus préférentiellement entre 0,7 et 3, encore plus préférentiellement de l'ordre de 1.

Pour le blanchiment, les insectes, de préférence des larves, sont blanchis à l'eau ou à la vapeur (buses ou lit de vapeur) à une température comprise entre 80 et 105°C, de préférence entre 87 et 105°C, plus préférentiellement entre 95 et 100°C, encore plus préférentiellement 98°C ou bien à l'eau à une température comprise entre 90 et 100°C, préférentiellement entre 92 et 95°C (par buses d'aspersion) ou en mode mixte (eau + vapeur) à une température comprise entre 80 et 130°C, de préférence entre 90 et 120°C, plus préférentiellement entre 95 et 105°C, encore plus préférentiellement 98°C. Lorsque les insectes sont blanchis uniquement à la vapeur, le blanchiment est avantageusement réalisé dans des blancheurs à vapeur à circulation forcée (« forced steaming »). Le temps de séjour dans la chambre de blanchiment est compris entre 5 secondes et 15 minutes, préférentiellement entre 1 et 7 minutes.

Avantageusement, suite à l'étape 1 d'abattage, les insectes sont directement utilisés pour la mise en œuvre de l'étape 2 de séparation des cuticules de la partie molle des insectes, c'est-à-dire que les insectes ne sont soumis à aucun traitement, tel qu'un broyage, une congélation ou une déshydratation entre l'étape 1 et l'étape 2.

Selon un mode de réalisation préféré, les insectes sont des coléoptères et notamment, *Tenebrio molitor*.

20 • **Etape 2 : Séparation des cuticules de la partie molle des insectes**

L'étape 2 a pour objectif de séparer les cuticules de la partie molle des insectes.

La séparation des cuticules de la partie molle des insectes peut être effectuée à l'aide de tout type de séparateur adapté.

Selon un premier mode de réalisation, la séparation des cuticules de la partie molle est réalisée à l'aide d'un séparateur à bande.

Par « séparateur à bande », on vise un dispositif permettant la séparation de la partie solide de la partie molle d'un produit, et qui comporte une bande de serrage (ou bande presseuse) et un tambour perforé.

A titre d'exemple, un séparateur à bande peut comprendre une bande de serrage et un tambour perforé, la bande de serrage entourant au moins une partie du tambour perforé.

La bande de serrage permet l'apport et l'application des insectes contre le tambour perforé de sorte à faire passer, par pression, la partie molle des insectes à travers les perforations du tambour, tandis que la partie solide des insectes (cuticules) reste à l'extérieur du tambour.

Les cuticules peuvent ensuite être récupérées à l'aide d'un couteau racleur.

A titre d'exemple, on peut citer les séparateurs à bande provenant de la société Baader, tels que les séparateurs à bande 601 à 607 (« soft separator 601 to 607 »), ou encore les séparateurs à bande SEPAmatic® de BFD Corporation (gamme 410 à
5 4000V).

Avantageusement, le diamètre des perforations du tambour est compris entre 0,5 et 3 mm, de préférence entre 1 et 2 mm.

Concernant la pression, l'homme du métier est à même de déterminer la pression à exercer permettant la séparation des cuticules de la partie molle des insectes.

10 Selon un second mode de réalisation, la séparation des cuticules de la partie molle est réalisée à l'aide d'un filtre presse.

Un filtre presse est composé de toiles filtrantes, et permet une séparation selon le principe de filtration sous pression.

Avantageusement, le filtre presse utilisé dans le procédé d'obtention de chitine
15 et/ou chitosan selon l'invention est un filtre presse à bandes.

Un filtre presse à bandes comporte deux bandes de serrage perforées (également appelées « toiles filtrantes »). Les insectes sont placés entre les deux bandes de serrage perforées de sorte à faire passer, par pression, la partie molle des insectes à travers les perforations des bandes de serrage, tandis que la partie solide des
20 insectes restent entre les deux bandes de serrage perforées.

L'homme du métier est à même de déterminer le diamètre des perforations des bandes de serrage ainsi que la pression à exercer, permettant la séparation des cuticules de la partie molle des insectes.

A titre d'exemple, on peut citer le filtre presse à bandes (ou « presse à bandes »)
25 provenant de la société Flottweg, ou encore les filtres presses à bandes de la société ATR Créations.

Cette étape de séparation des insectes se distingue d'un pressage classique pouvant être réalisé par exemple avec une presse mono-vis ou bi-vis en ce qu'elle permet une séparation (nette) de la partie molle et des cuticules des insectes et non une
30 séparation d'un jus d'une fraction solide.

Avantageusement, la séparation des cuticules de la partie molle des insectes est effectuée à l'aide d'un séparateur à bande.

Les cuticules obtenues dans l'étape 2 comportent entre 10 et 30%, de préférence entre 15 et 25% en poids de chitine, sur le poids sec total de cuticules.

35 La détermination du taux de chitine est effectuée par extraction de celle-ci. A titre

d'exemple, une méthode de détermination du taux de chitine pouvant être utilisée est la méthode ADAC 991.43.

Selon un mode de réalisation préféré, la séparation des cuticules de la partie molle des coléoptères et notamment de *Tenebrio molitor* est effectuée à l'aide d'un
5 séparateur à bande.

- **Etape 3 : Traitement basique des cuticules**

Dans l'étape 3, les cuticules récupérées à l'issue de l'étape 2 sont soumises à un traitement basique, c'est-à-dire qu'elles sont mises en contact avec une base (ou agent basique).

10 Avantageusement, le traitement basique est réalisé à l'aide d'une base forte.

Avantageusement, la base forte est choisie parmi l'hydroxyde de sodium ou soude, de potassium, et d'ammonium. De préférence, la base forte est l'hydroxyde de sodium ou de potassium, plus préférentiellement l'hydroxyde de sodium.

De préférence, la base utilisée pour le traitement basique est sous forme d'une
15 solution basique aqueuse.

Dans ce cas, la concentration molaire de la base en solution aqueuse est avantageusement comprise entre 0,1 et 5 mol.L⁻¹, de préférence comprise entre 0,5 et 2 mol.L⁻¹, encore plus préférentiellement égale à 1 mol.L⁻¹ (par exemple soude molaire).

De préférence, la concentration de la base est ajustée de manière à obtenir un
20 ratio base en poids sec en g : cuticules en poids sec en g : eau en poids en g compris entre 0,4 : 0,45 : 10 et 1,4 : 0,45 : 30, plus préférentiellement 0,4 : 0,45 : 10 et 1,2 : 0,45 : 30, encore plus préférentiellement d'environ 0,8 : 0,45 : 20. Les valeurs plus préférées sont notamment celles à mettre en œuvre lors de l'utilisation d'hydroxyde de sodium.

Le traitement basique est avantageusement réalisé pendant une durée comprise
25 entre 5 et 60 heures, de préférence pendant une durée comprise entre 10 et 60 heures, plus préférentiellement entre 15 et 55 heures.

La durée du traitement basique pourra avantageusement être adaptée selon les propriétés de la chitine que l'on souhaite obtenir, telles que sa blancheur.

Par exemple, dans le cas où l'obtention d'une chitine de couleur blanche n'est
30 pas particulièrement souhaitée, la durée du traitement basique pourra être inférieure à 30 heures, telle que par exemple 20 heures environ.

A l'inverse, dans le cas où l'obtention d'une chitine de couleur blanche est souhaitée, et notamment lorsque les insectes sont des coléoptères et des orthoptères, la durée du traitement basique sera avantageusement d'au moins 30 heures, de
35 préférence d'au moins 40 heures, telle que par exemple 48 heures environ.

Avantageusement, le traitement basique est réalisé à une température comprise entre 60 et 100 °C, de préférence comprise entre 80 et 100 °C, plus préférentiellement d'environ 90 °C.

5 Pour cela, le milieu réactionnel peut être chauffé, par exemple à l'aide d'un bain d'huile, d'un échangeur de chaleur ou d'un système de chauffage à double enveloppe, de sorte à atteindre la température souhaitée.

L'étape de traitement basique est avantageusement réalisée sous agitation.

- **Etape 4 : Récupération de la chitine**

10 L'étape 4 de récupération de la chitine, à partir du milieu réactionnel obtenu à la fin de l'étape 3, peut être réalisée par toute méthode de récupération appropriée. Ces méthodes sont connues de l'homme du métier.

A titre d'exemple, on peut citer la filtration, la centrifugation et la décantation.

Avantageusement, la récupération de la chitine est réalisée par filtration.

- **Etape (optionnelle) 5 : Lavage de la chitine**

15 La chitine récupérée à l'issue de l'étape 4 est ensuite optionnellement lavée.

L'étape 5 de lavage de la chitine est avantageusement réalisée à l'aide d'eau du robinet ou d'eau distillée, de préférence à l'aide d'eau du robinet. De préférence, cette eau a une température comprise entre 15 et 60 °C.

De préférence, le lavage est réalisé jusqu'à neutralisation du pH.

20

- **Etape (optionnelle) 6 : Séchage de la chitine**

La chitine est ensuite optionnellement séchée.

De préférence, l'étape de séchage est réalisée à une température comprise entre 40 et 105 °C, de préférence à environ 60 °C.

25 L'étape de séchage est réalisée pendant une durée comprise entre 10 et 80 heures, de préférence pendant environ 24 heures.

Avantageusement, le séchage est réalisé à l'aide d'une étuve de séchage, telle que le modèle FED 115 ou FP53 de la société Binder®.

Afin de préparer du chitosan à partir de la chitine, les étapes suivantes peuvent en outre être réalisées :

30

- **Etape (optionnelle) 7: Broyage de la chitine**

La chitine obtenue à l'issue de l'étape 4, 5 ou 6 est ensuite optionnellement broyée, par exemple dans un broyeur ultracentrifuge à tamis.

35 La production de chitosan à partir de chitine, par la réaction de désacétylation, dépend en grande partie de la taille des particules de chitine. Ainsi, un broyage très fin de la chitine avant désacétylation permet d'augmenter significativement les rendements

et la vitesse de la réaction de désacétylation, comme cela est illustré dans le Tableau 1 ci-après :

	Broyage 30 s	Broyage 45 s	Broyage 60 s	Broyage 120 s
50% des particules	< 174 μm	< 117 μm	< 95 μm	< 67 μm
90% des particules	< 310 μm	< 244 μm	< 157 μm	< 159 μm
DA*	99%	90%	85%	80%

*Mesure du Degré d'Acétylation DA

5 **Tableau 1 :** Efficacité de la désacétylation selon le broyage préalable de la chitine

Les conditions de la désacétylation effectuée dans l'essai rapporté dans le Tableau 1 sont les suivantes : 4 heures de réaction, 100 °C, NaOH en solution aqueuse à 30% en volume, dans un ratio chitine estimée : solution de NaOH égal à 1:20.

10 Par conséquent, la chitine est préférentiellement broyée à une taille de particules inférieure à 300 μm , telle qu'une taille inférieure à 260, ou inférieure à 200 μm , ou encore inférieure à 160 μm .

• **Etape 8 : Désacétylation de la chitine**

15 Cette étape n'est mise en œuvre que dans le cas où l'obtention de chitosan est souhaitée.

La chitine est ensuite placée dans un réacteur où est ajoutée une base.

Avantageusement, la désacétylation de la chitine est réalisée à l'aide d'une base forte.

20 Avantageusement, la base forte est choisie parmi l'hydroxyde de sodium ou soude, de potassium, et d'ammonium. De préférence, la base forte est l'hydroxyde de sodium.

De préférence, la base utilisée pour le traitement basique est sous forme d'une solution basique aqueuse, de préférence une solution basique aqueuse concentrée.

25 Dans ce cas, la concentration molaire de la base en solution aqueuse est avantageusement comprise entre 4 et 25 mol.L⁻¹, de préférence comprise entre 6 et 22 mol.L⁻¹, plus préférentiellement comprise entre 8 et 19 mol.L⁻¹, encore plus préférentiellement comprise entre 10 et 19 mol.L⁻¹, de manière encore plus préférentielle comprise entre 12,5 et 19 mol.L⁻¹.

De préférence, la concentration de la base est ajustée de manière à obtenir un ratio base en poids sec en g : chitine en poids sec en g : eau en poids en g compris entre 18 : 1 : 35 et 55 : 1 : 55, tel que par exemple compris entre 18 : 1 : 35 et 30 : 1 : 55, ou d'environ 24 : 1 : 45, plus préférentiellement d'environ 38 : 1 : 50. Les valeurs plus
5 préférées sont notamment celles à mettre en œuvre lors de l'utilisation d'hydroxyde de sodium.

De préférence, la désacétylation est réalisée pendant 1 à 24 heures et préférentiellement 2 à 18 heures.

Avantageusement, cette désacétylation est réalisée en deux fois, avec une étape
10 intermédiaire de neutralisation du pH. Par exemple, la désacétylation pourra être réalisée en deux fois deux heures, c'est-à-dire pendant 4 heures, avec une étape intermédiaire de neutralisation du pH intermédiaire.

La température de désacétylation se situe avantageusement entre 80 et 150 °C, de préférence entre 90 et 120 °C et plus préférentiellement à 100 °C.

15 • **Etape 9 : Récupération du chitosan**

L'étape 9 de récupération du chitosan, à partir du milieu réactionnel obtenu à la fin de l'étape 8, peut être réalisée par toute méthode de récupération appropriée. Ces méthodes sont connues de l'homme du métier.

A titre d'exemple, on peut citer la filtration, la centrifugation et la décantation.

20 Avantageusement, la récupération du chitosan est réalisée par filtration.

Dans le cas où l'étape 7 de broyage de la chitine est mise en œuvre, le chitosan récupéré est sous forme de poudre.

Le chitosan peut ensuite subir toute opération connue de l'homme du métier permettant de le fonctionnaliser, notamment par l'ajout de radicaux (carboxylation,
25 hydroxylation...).

• **Etape (optionnelle) 10 : Lavage**

Le chitosan récupéré à l'issue de l'étape 9 est ensuite optionnellement lavé.

L'étape 10 de lavage du chitosan est avantageusement réalisée à l'aide d'eau du robinet. De préférence, cette eau a une température comprise entre 15 et 60 °C.

30 De préférence, le lavage est réalisé jusqu'à neutralisation du pH.

• **Etape (optionnelle) 11 : Séchage**

Le chitosan, pouvant être sous forme de poudre, est ensuite optionnellement séché entre 30 et 80 °C, avantageusement entre 50 et 70 °C, de préférence à environ 60 °C, pour obtenir du chitosan ou une poudre de chitosan ayant une teneur en matière
35 sèche supérieure à 85%, plus particulièrement supérieure à 90%.

L'étape de séchage est réalisée pendant une durée comprise entre 10 et 80 heures, de préférence pendant environ 24 heures.

Avantageusement, le séchage est réalisé à l'aide d'une étuve de séchage, telle que le modèle FED 115 ou FP 53 de la société Binder®.

- 5 L'invention sera mieux comprise au vu des exemples qui suivent, qui sont donnés à titre illustratif.

EXEMPLE 1 : Procédé d'obtention de chitine selon l'invention

10 I. Procédé d'obtention

Des larves de *Tenebrio molitor* ont été utilisées. A réception des larves, ces dernières peuvent être stockées à 4°C pendant 0 à 15 jours dans leurs bacs d'élevage avant l'abattage sans dégradation majeure. Le poids des larves (âge) utilisées est variable et par conséquent leur composition peut varier, comme cela est illustré dans

15 le Tableau 2 ci-après :

Biomasse (insectes)	mg	23	35	58	80	108	154
Matière sèche	%*	34	34	34,2	37,9	39,6	39,5
Cendres	%*	1,59	1,52	1,6	1,75	1,67	1,43
Protéines brutes	%*	22,6	22,2	22	23,2	23,1	23,2
Lipides	%*	6,62	6,88	7,98	10,3	10,9	11,7

* Les % sont exprimés en poids sec sur le poids humide de larves.

Tableau 2 : Composition biochimique des larves de *Tenebrio molitor* selon leur poids.

• **Etape 1 : Abattage des insectes**

Les larves vivantes (+4°C à + 25°C) sont convoyées en couche d'épaisseur comprise entre 2 et 10 cm, sur un tapis à bande perforé (1 mm) jusqu'à une chambre de blanchiment. Les insectes sont ainsi blanchis à la vapeur (buses ou lit de vapeur) à 98°C sous ventilation forcée ou bien à l'eau à 92-95°C (buses d'aspersion) ou en mode mixte (eau + vapeur). Le temps de séjour dans la chambre de blanchiment est compris entre 5 secondes et 15 minutes, idéalement 5 minutes.

25 La température des larves en sortie de blanchiment est comprise entre 75°C et 98°C.

• **Etape 2 : Séparation de la partie molle des cuticules des insectes**

Les larves, une fois blanchies, sont convoyées jusqu'à la trémie d'alimentation d'un séparateur à bande, afin de séparer les cuticules de la partie molle des larves.

Avantageusement, la séparation s'effectue immédiatement après l'abattage de manière à ce que les larves n'aient pas le temps de refroidir à température ambiante.

Le séparateur à bande utilisé est un séparateur à bande 601 de la société Baader.

- 5 Le diamètre des perforations du tambour est de 1,3 mm.
La partie molle des insectes est récupérée dans une cuve.
Les cuticules sont récupérées à l'aide d'un couteau racleur.
Le pourcentage de matière sèche des cuticules est d'environ 45%.
Le taux d'humidité des cuticules est donc d'environ 55%.

10 • **Etape 3 : Traitement basique des cuticules**

Dans un tricol de 2 L muni d'un réfrigérant et d'un agitateur mécanique (Heidolph® RZR1), on place $90,02 \pm 0,02$ g de cuticules humides obtenues à l'étape 2 (Matière Sèche = $40,1 \pm 0,1$ %) et $1,80 \pm 0,02$ L de solution aqueuse d'hydroxyde de sodium de concentration égale à 1 mol.L^{-1} . Le milieu est chauffé avec un bain d'huile à
15 une température de 90 ± 2 °C pendant 48 heures. Pendant toute la réaction, le milieu réactionnel est soumis à une agitation de 280 rpm.

Le ratio base en poids sec en g : cuticules en poids sec en g : eau en poids en g est environ égal à 0,9 :0,45 :22.

• **Etape 4 : Récupération de la chitine**

20 Le milieu réactionnel obtenu à l'issue de l'étape 3 est ensuite filtré (Filtre SEFAR MEDIFAB® 03-60/42) de sorte à récupérer la chitine.

• **Etape (optionnelle) 5 : Lavage de la chitine**

La chitine récupérée à l'issue de l'étape 4 est ensuite rincée à l'eau tiède du robinet jusqu'à neutralisation du pH.

25 • **Etape (optionnelle) 6 : Séchage de la chitine**

La chitine est ensuite séchée pendant 24 heures, à 60°C, dans une étuve de séchage (Binder®, modèle FP53).

On obtient ainsi $6,3 \pm 0,2$ g de chitine.

II. **Méthodes d'analyse**

30 **Mesure de la matière sèche et du taux d'humidité**

Le pourcentage de matière sèche et le taux d'humidité sont calculés de la façon suivante.

2 g de chitine sont pesés dans des coupelles, introduits dans une étuve de séchage (Binder®, modèle FED 115) et séchés à 105 °C pendant 24 h (ou jusqu'à
35 séchage complet).

Le pourcentage de matière sèche est obtenu en faisant le rapport de la masse sèche de chitine après séchage sur la masse de chitine avant séchage.

Le taux d'humidité est obtenu en ôtant le pourcentage de matière sèche à la valeur de 100%.

- 5 Cette méthode de mesure peut également être utilisée pour mesurer le pourcentage de matière sèche et le taux d'humidité des cuticules.

Mesure du taux de cendres

Le taux de cendres a été déterminé selon la méthode norme NF V18-101.

Mesure de la teneur en protéines brutes

- 10 Le taux de protéines est obtenu par la méthode Dumas, avec le coefficient de conversion de 6,25, adaptée de la norme NF EN ISO 16634-1.

Mesure de la teneur en lipides ou matières grasses

Le taux de lipides est obtenu par une méthode adaptée du règlement CE 152/2009 – procédé B – SN.

- 15 Teneur et abondance relative en acides aminés

La teneur en acides aminés de la chitine selon l'invention est de préférence déterminée selon la méthode NF EN ISO 13904 ou une méthode adaptée du règlement CE 152/2009 du 27-01-2009 – SN (ces deux méthodes étant équivalentes) pour le tryptophane, et selon la méthode NF EN ISO 13903 ou une méthode issue du règlement
20 CE 152/2009 du 27-01-2009 – SN pour les autres acides aminés (ces deux méthodes étant équivalentes).

L'abondance relative a été calculée en rapportant la teneur de chaque acide aminé à la teneur totale en acides aminés.

Teneur totale en acides aminés

- 25 La teneur totale en acides aminés a été déterminée en additionnant les valeurs individuelles obtenues pour chaque acide aminé, y compris le tryptophane.

Pureté par différence

- Dans le cas de cette mesure, les teneurs en impuretés connues (acides aminés, lipides et cendres) ont été soustraites à la valeur de pureté absolue (100%) pour obtenir
30 la valeur de la pureté estimée par différence. Ainsi, par exemple, un échantillon qui contient 30% d'acides aminés, 10% de lipides et 1% de cendres, se voit dès lors attribuer une pureté par différence de $100-30-10-1=59\%$

Masse moléculaire de la chitine

- La méthode de détermination de la masse moléculaire de la chitine repose sur
35 des mesures de viscosité de solutions diluées de chitine. Les dilutions sont réalisées

dans du diméthyleacétamide contenant 5% de chlorure de lithium (DMAc-LiCl 5%). En effet, les polymères en solution augmentent la viscosité d'un solvant. La viscosité du polymère en solution dépend de sa concentration et de sa masse moléculaire. La relation est définie par l'équation de Mark-Houwink-Sakurada :

$$[\eta] = KM^\alpha$$

avec $[\eta]$: la viscosité intrinsèque, M : la masse moléculaire, K et α des constantes spécifiques d'un système solvant/polymère à une température donnée.

Les valeurs pour la chitine dissoute dans le solvant DMAc-LiCl 5 % à 25 °C sont : $K = 0,24 \text{ mL.g}^{-1}$ et $\alpha = 0,69$ (Pacheco *et al* ; 2011).

La viscosité intrinsèque correspond à la viscosité spécifique quand la concentration du polymère tend vers zéro.

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

Pour mesurer la viscosité spécifique de la chitine, cinq solutions de faibles concentrations sont préparées dans le DMAc-LiCl 5 %. Les temps d'écoulement du solvant seul (t_0) et des solutions (t) des différentes concentrations sont mesurés par un micro viscosimètre à chute de bille pour calculer la viscosité relative (η_r). A partir de la viscosité relative (η_r), il est nécessaire de calculer les viscosités spécifiques (η_{sp}), réduites (η_{red}) et inhérentes (η_{inh}) de chaque concentration de chitine.

$$\eta_{sp} = \eta_r - 1; \eta_{red} = \frac{\eta_{sp}}{c}; \eta_{inh} = \frac{\ln(\eta_r)}{c}$$

La viscosité intrinsèque est alors calculée en traçant les courbes « concentration vs. viscosité réduite » (pente positive) et « concentration vs. viscosité inhérente » (pente négative). Chacune de ces courbes est extrapolée à la concentration de zéro. L'ordonnée à l'origine correspond à la viscosité intrinsèque. Des résultats similaires sont attendus des deux courbes. Enfin, pour déterminer la masse moléculaire de la chitine, l'équation de Mark-Houwink-Sakurada est appliquée.

III. Résultats

Les propriétés de la chitine obtenue à l'issue de l'étape 6 sont présentées dans le Tableau 3 ci-dessous.

Cendres (g/100 g MS*)	1,71 +/- 0,11
Matières grasses (g/100 g MS*)	0 +/- 0,00
Teneur totale en aa** (g/100 g MS*)	0,68 +/- 0,03
Pureté par différence (%)	97,61 +/- 0,14
Masse moléculaire (kg.mol ⁻¹)	1015,5 +/- 98,29

*MS : matière sèche

**aa : acides aminés

Tableau 3 : Propriétés de la chitine obtenue dans l'Exemple 1

L'abondance relative en acides aminés de la chitine obtenue est présentée dans le Tableau 4 ci-dessous. Elle est exprimée en %.

Thréonine (Thr)	0,00
Sérine (Ser)	0,00
Proline (Pro)	0,00
Glycine (Glu)	0,00
Acide glutamique (Glu)	0,00
Alanine (Ala)	12,48
Cystéine (Cys)	5,87
Valine (Val)	8,07
Méthionine (Met)	0,00
Isoleucine (Ile)	0,00
Acide aspartique (Asp)	0,00
Leucine (Leu)	0,00
Tyrosine (Tyr)	0,00
Phénylalanine (Phe)	0,00
Histidine (His)	44,77
Lysine (Lys)	28,62
Arginine (Arg)	0,00
Tryptophane (Trp)	0,19
Total	100,00

Tableau 4 : Abondance relative en acides aminés de la chitine obtenue dans l'Exemple 1

5 acides aminés apparaissent particulièrement résistants au procédé, à savoir l'alanine, la cystéine, la valine, l'histidine et la lysine. L'histidine, la lysine et l'alanine sont les 3 acides aminés les plus résistants. Ils représentent en effet plus de 85% des acides aminés résiduels.

EXEMPLE 2 : Procédé d'obtention de chitosan selon l'invention

Pour préparer le chitosan, on utilise la chitine résultant de l'étape 4, 5 ou 6 de l'Exemple 1.

Etape (optionnelle) 7 : Broyage de la chitine

La chitine a été broyée dans un broyeur ultracentrifuge à tamis à une taille de 250 µm.

Etape 8 : Désacétylation de la chitine

La chitine est ensuite placée dans un réacteur où est ajoutée une solution de soude concentrée. L'hydroxyde de sodium en solution aqueuse à une teneur de

50% (soit une concentration d'hydroxyde de sodium en solution aqueuse de 12,5 mol/L) est ajouté selon un ratio poids en g de chitine broyée / volume en mL d'hydroxyde de sodium en solution aqueuse égal à 1 :50. La cuve est ensuite chauffée à une température de 100°C. La réaction de désacétylation est réalisée pendant 2 fois 2 heures, avec une étape intermédiaire de neutralisation du pH.

- **Etape 9 : Récupération du chitosan**

Le milieu réactionnel obtenu à l'issue de l'étape 8 est ensuite filtré (Filtre SEFAR MEDIFAB® 03-60/42) de sorte à récupérer du chitosan.

- **Etape (optionnelle) 10 : Lavage**

Le chitosan récupéré à l'issue de l'étape 9 est ensuite rincé à l'eau tiède du robinet jusqu'à neutralisation du pH.

On obtient ainsi du chitosan en poudre.

La masse moléculaire du chitosan obtenu est égale à 350 +/- 26 kg.mol⁻¹.

La pureté par différence du chitosan obtenu est supérieure à 97%.

- **Etape (optionnelle) 11 : Séchage**

La poudre de chitosan est ensuite séchée à 60°C afin d'obtenir une poudre ayant une teneur en matière sèche supérieure à 85%.

EXEMPLE 3 : Procédé d'obtention de chitine comparatif

Ce procédé comparatif ne comprend pas d'étape de séparation de la partie molle des cuticules des insectes (étape 2 du procédé selon l'invention), mais comprend une étape de broyage puis pressage des insectes (étape 2 du procédé comparatif).

I. Matériel et méthodes

- **Etape 1 : Abattage des insectes**

Cette étape est identique à celle de l'Exemple 1.

- **Etape 2 : Broyage puis pressage des insectes**

Suite à l'étape 1, 600 g de larves sont introduits dans un bécher contenant 450 mL d'eau, et mixées à l'aide d'un mixeur Thermomix®, à vitesse maximale pendant 30 secondes. Le liquide ainsi obtenu est pressé avec une presse bi-vis de type Angel dans les conditions suivantes :

- Vitesse = 82 tr/min;
- W (énergie) = 3 HP (chevaux vapeur) soit $2,68 \times 10^6$ J;
- Porosité (approximative) = 0,5 mm dans la première partie et 0,2 mm dans la dernière partie.

On obtient ainsi un jus de presse et un gâteau de presse de $133,1 \pm 0,1$ g en poids humide.

- **Etape 3 : Traitement basique du gâteau de presse**

Dans un tricol de 2 L muni d'un réfrigérant et d'un agitateur mécanique (Heidolph® RZR1), on place $90,06 \pm 0,05$ g de gâteau de presse obtenu à l'étape 2 (Matière Sèche = 48 ± 1 %) et $1,80 \pm 0,02$ L de solution aqueuse d'hydroxyde de sodium de concentration égale à 1 mol.L^{-1} . Le milieu est chauffé avec un bain d'huile à une température de 90 ± 2 °C pendant 48 heures. Pendant toute la réaction, le milieu réactionnel est soumis à une agitation de 280 rpm.

- **Etape 4 : Récupération de la chitine**

Le milieu réactionnel obtenu à l'issue de l'étape 3 est ensuite filtré (Filtre SEFAR MEDIFAB® 03-60/42) de sorte à récupérer la chitine.

- **Etape 5 : Lavage de la chitine**

La chitine récupérée à l'issue de l'étape 4 est ensuite rincée à l'eau tiède du robinet jusqu'à neutralisation du pH.

- **Etape 6 : Séchage de la chitine**

La chitine est ensuite séchée pendant 24 heures, à 60°C, dans une étuve de séchage (Binder®, modèle FP53).

On obtient ainsi $8,1 \pm 0,7$ g de chitine.

II. Résultats

Les méthodes d'analyse sont identiques à celles décrites à l'Exemple 1.

Les propriétés de la chitine ainsi obtenue sont présentées dans le Tableau 5 ci-dessous.

Cendres (g/100 g MS*)	1,825 +/- 0,40
Matières grasses (g/100 g MS*)	0 +/- 0,00
Teneur totale en aa** (g/100 g MS*)	1,105 +/- 0,18
Masse moléculaire (kg.mol ⁻¹)	799,5 +/- 53,03

*MS : matière sèche

**aa : acides aminés

Tableau 5 : Propriétés de la chitine obtenue dans l'Exemple 3

L'abondance relative en acides aminés de la chitine obtenue est présentée dans le Tableau 6 ci-dessous. Elle est exprimée en %.

Threonine (Thr)	0,00
Serine (Ser)	0,00

Proline (Pro)	0,00
Glycine (Glu)	0,00
Acide glutamique (Glu)	0,00
Alanine (Ala)	26,56
Cystéine (Cys)	4,96
Valine (Val)	13,95
Methionine (Met)	0,00
Isoleucine (Ile)	0,00
Acide aspartique (Asp)	0,00
Leucine (Leu)	0,00
Tyrosine (Tyr)	0,00
Phénylalanine (Phe)	0,00
Histidine (His)	38,71
Lysine (Lys)	15,30
Arginine (Arg)	0,00
Tryptophane (Trp)	0,52
Total	100,00

Tableau 6 : Abondance relative en acides aminés de la chitine obtenue dans l'Exemple

3

5 acides aminés apparaissent particulièrement résistants au procédé, à savoir l'alanine, la cystéine, la valine, l'histidine et la lysine. L'histidine, la lysine et l'alanine sont les 3 acides aminés les plus résistants. Les abondances relatives respectives de l'alanine et de la valine sont nettement supérieures à celles calculées dans l'Exemple 1.

EXEMPLE 4 : Obtention de chitine selon l'invention à partir de différents insectes

Différents insectes ont été utilisés dans cet exemple : *Tenebrio molitor*, *Pachnoda marginata*, *Zophobas morio* et *Galleria mellonella*.

Les cuticules ont été obtenues à partir du stade larvaire des différents insectes selon les étapes 1 et 2 décrites à l'Exemple 1.

Les cuticules subissent alors le traitement basique suivant : dans un tricol de 2 L muni d'un réfrigérant et d'un agitateur (Heidolph® RZR1), on place m_1 g de cuticules humides obtenues à l'étape précédente (Matière sèche = n_1 %), et $1,80 \pm 0,02$ L de solution aqueuse d'hydroxyde de sodium (ou d'hydroxyde de potassium) de concentration égale à $1,0 \text{ mol.L}^{-1}$. Le milieu est chauffé avec un bain d'huile à une température de $90 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 48 heures (24h pour *G. mellonella*). Pendant toute la réaction, le milieu réactionnel est soumis à une agitation de 300 rpm. On utilise donc environ 0,05 L de solution aqueuse d'hydroxyde de sodium (ou d'hydroxyde de

potassium) par gramme de matière sèche de résidu solide.

Après ce traitement basique, les étapes 4 à 6 du procédé de l'Exemple 1 sont alors effectuées (pour *P. marginata* l'étape 5 est effectuée avec de l'eau distillée).

- Les conditions expérimentales sont résumées dans le Tableau 7, en particulier
- 5 le ratio base : cuticules : eau est un ratio en poids sec en g pour la base et les cuticules, et en poids en g pour l'eau.

Insecte	Base	Masse m_1 initiale de cuticules (g)	n_1 % matière sèche	Masse m'_1 de cuticules sèches (g)	Ratio base : cuticules : eau
<i>T. molitor</i>	NaOH	90,03±0,02	40,06±0,00	36,06±0,01	2 : 1 : 50
<i>T. molitor</i>	KOH	90,33±0,18	41,23±1,63	37,24±1,44	2,7 : 1 : 48
<i>P. marginata</i>	NaOH	110,62±0,58	31,58±1,24	34,93±1,55	2,1 : 1 : 51
<i>Z. morio</i>	NaOH	75,11±0,07	45,29±1,63	34,02±1,24	2,1 : 1 : 53
<i>G. mellonella</i>	NaOH	100,63±0,56	34,44±1,40	34,65±1,40	2,1 : 1 : 52

Tableau 7 : Conditions expérimentales du traitement basique de différents insectes

Une masse m_2 de chitine est finalement recueillie. Le rendement est calculé de la manière suivante : $m_2/m'_1 \times 100$ et les résultats sont indiqués dans le Tableau 8.

Insecte	Masse m_2 de chitine obtenue (g)	Rendement (%)
<i>T. molitor</i>	6,28±0,19	17,4±0,5
<i>T. molitor</i>	8,12±0,32	21,8±1,3
<i>P. marginata</i>	7,95±0,24	22,8±1,2
<i>Z. morio</i>	5,93±0,78	17,4±2,2
<i>G. mellonella</i>	7,05±0,54	20,4±1,5

- 10 Tableau 8 : Rendements d'extraction de chitine pour différents insectes

Les chitines sont ensuite analysées selon les méthodes d'analyses indiquées au point II de l'Exemple 1. Les résultats d'analyses sont présentés dans le Tableau 9, dans lequel les teneurs en cendres, lipides et acides aminés correspondent à des teneurs en gramme pour 100 g de matière sèche.

Source de chitine	Masse molaire (kDa)	Cendres	Lipides	Acides aminés	Pureté par différence (%)
<i>T. molitor</i> (NaOH)	1015±98	1,71±0,11	0±0,00	0,68±0,03	97,61±0,12
<i>T. molitor</i> (KOH)	886±49	2,58±0,04	0,71±0,40	0,32±0,01	96,39±0,40
<i>P. marginata</i>	1932±66	2,56±0,13	0,33±0,25	0,25±0,07	96,86±0,29
<i>Z. morio</i>	865±51	1,57±0,00	0,32±0,01	0,535±0,19	97,575±0,19
<i>G. mellonella</i>	1626±107	1,635±0,06	0±0,00	0,18±0,06	98,185±0,19

- 15 Tableau 9 : Propriétés des chitines obtenues à partir de différents insectes

Le procédé selon l'invention permet d'obtenir une chitine de masse moléculaire

élevée, présentant également une pureté élevée, et ce, quel que soit l'insecte ou le traitement basique utilisé.

L'abondance relative en acides aminés des chitines obtenues est présentée dans le Tableau 10 ci-dessous et est exprimée en pourcentages.

	<i>T. molitor</i> (NaOH)	<i>T. molitor</i> (KOH)	<i>P. marginata</i>	<i>Z. morio</i>	<i>G. mellonella</i>
thréonine	0,000	0,000	31,955	38,261	0,000
sérine	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
proline	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
glycine	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
acide glutamique	0,000	0,000	0,000	3,733	0,000
alanine	12,476	24,845	0,000	23,330	0,000
cystéine	5,871	0,000	0,000	0,000	0,000
valine	8,073	0,000	0,000	23,330	0,000
méthionine	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
isoleucine	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
acide aspartique	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
leucine	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
tyrosine	0,000	0,000	0,000	11,198	0,000
phénylalanine	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
histidine	44,767	0,000	0,000	0,000	0,000
lysine	28,622	74,534	67,905	0,000	99,174
arginine	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
tryptophane	0,191	0,621	0,140	0,149	0,826
total	100,000	100,000	100,000	100,000	100,000

5 **Tableau 10 :** Abondance relative en acides aminés des chitines obtenues à partir de différents insectes

Les conditions du traitement basique (NaOH ou KOH) ainsi que les insectes utilisés influent sur la composition en acides aminés de la chitine résultante.

10 **EXEMPLE 5 : Obtention de chitosan selon l'invention à partir de différents insectes**

• **Broyage de la chitine**

Chaque chitine obtenue à l'Exemple 4 est broyée finement dans un broyeur centrifuge (Retsch® ZM200) avec une grille de pores 250 µm.

15 • **Désacétylation de la chitine**

Dans un tricol de 2 L muni d'un réfrigérant et d'un agitateur (Heidolph® RZR1), on place une masse de m_3 g de la chitine obtenue après l'étape de broyage, et un volume

V_1 ($V_1 = m_3 \cdot 50$ mL) de solution aqueuse d'hydroxyde de sodium (ou d'hydroxyde de potassium) de concentration égale à 19 mol.L^{-1} . Le milieu est chauffé avec un bain d'huile à une température de $100 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 2 heures. Pendant toute la réaction, le milieu réactionnel est soumis à une agitation de 300 rpm.

5 • **Récupération du chitosan**

Le milieu réactionnel obtenu à l'issue de l'étape de désacétylation est ensuite filtré (Filtre SEFAR MEDIFAB® 03-60/42) de sorte à récupérer le chitosan.

 • **Lavage du chitosan**

10 Le chitosan récupéré est ensuite rincé à l'eau tiède du robinet jusqu'à neutralisation du pH.

Il est ensuite remis en réaction dans un tricol contenant la même quantité de solution aqueuse d'hydroxyde de sodium (ou d'hydroxyde de potassium) et les 3 étapes précédentes (désacétylation, récupération et lavage) sont répétées à l'identique.

 • **Séchage du chitosan**

15 Les étapes de désacétylation, récupération et lavage sont donc réalisées deux fois au total. A l'issue de ces étapes, le chitosan est séché pendant 24 heures, à 60°C , dans une étuve de séchage (Binder®, modèle FP53). On recueille une masse m_4 de chitosan. Le rendement est calculé de la manière suivante : $m_4/m_3 \cdot 100$ et les résultats sont résumés dans le Tableau 11. En particulier, le Tableau 11 fait référence au ratio

20 base : chitine : eau qui est un ratio en poids sec en g pour la base et la chitine, et en poids en g pour l'eau.

Source de chitine	Base	Masse initiale m_3 de chitine (g)	Volume V_1 de base utilisé (mL)	Ratio base : chitine : eau	Masse m_4 de chitosan obtenu (g)	Rendement (%)
<i>T. molitor</i> (NaOH)	NaOH	$12,02 \pm 0,24$	601 ± 12	38 : 1 : 50	$8,83 \pm 0,25$	$73,4 \pm 0,6$
<i>T. molitor</i> (KOH)	KOH	$13,73 \pm 0,49$	686 ± 24	53 : 1 : 50	$9,17 \pm 0,27$	$66,9 \pm 4,3$
<i>P. marginata</i>	NaOH	$16,78 \pm 3,51$	839 ± 175	38 : 1 : 50	$11,11 \pm 2,52$	$66,1 \pm 1,2$
<i>Z. morio</i>	NaOH	$13,91 \pm 0,28$	696 ± 14	38 : 1 : 50	$9,61 \pm 0,09$	$69,1 \pm 2,1$
<i>G. mellonella</i>	NaOH	$16,80 \pm 0,01$	840 ± 0	38 : 1 : 50	$11,19 \pm 0,60$	$66,6 \pm 3,6$

Tableau 11 : Masses de chitine, volume de base et rendement d'obtention de chitosan en fonction des insectes

25 Les chitosans sont ensuite analysés selon les méthodes d'analyses indiquées au point II de l'Exemple 1. Les résultats d'analyses sont présentés dans le Tableau 12, dans lequel les teneurs en cendres, lipides et acides aminés correspondent à des teneurs en

gramme pour 100 g de matière sèche. Dans ce tableau, la teneur en lipides mesurée est à la limite de détection.

Source de chitosan	Masse molaire (kDa)	Cendres	Lipides	Acides aminés	Pureté par différence (%)
<i>T. molitor</i> (NaOH)	379±31	2,305±0,29	0,455±0,01	0,245±0,08	96,995±0,30
<i>T. molitor</i> (KOH)	593±9	1,81±0,11	0,245±0,01	0,375±0,01	97,57±0,11
<i>P. marginata</i>	561±74	2,71±0,03	0,385±0,05	0,215±0,01	96,69±0,06
<i>Z. morio</i>	430±11	1,24±0,16	0,53±0,01	0,26±0,06	97,97±0,17
<i>G. mellonella</i>	483±29	0,99±0,04	0,665±0,02	0,265±0,01	98,08±0,05

Tableau 12 : Propriétés des chitosans obtenus à partir de différents insectes

Le procédé selon l'invention permettant d'obtenir une chitine de masse
 5 moléculaire et pureté élevée, le chitosan résultant présente également ces caractéristiques, même dans des conditions de désacétylation différentes.

REVENDICATIONS

- 5 1. Chitine dont la masse moléculaire est supérieure ou égale à 855 kg.mol^{-1} et comportant moins de 1,5% en poids d'acides aminés sur le poids sec total de chitine, la masse moléculaire étant déterminée grâce à la mesure de la viscosité par chute de bille.
- 10 2. Chitine selon la revendication 1, comportant moins de 3% en poids de cendres sur le poids sec total de chitine.
- 15 3. Chitine selon l'une quelconque des revendications 1 ou 2, dont la pureté par différence est supérieure ou égale à 95%, la pureté par différence étant obtenue par soustraction des teneurs en impuretés en acides aminés, lipides et cendres, à la valeur de pureté absolue, ladite valeur de pureté absolue étant égale à 100%.
- 20 4. Chitosan dont la masse moléculaire est supérieure ou égale à 250 kg.mol^{-1} , la masse moléculaire étant déterminée grâce à la mesure de la viscosité par chute de bille.
- 25 5. Chitosan selon la revendication 4, dont la pureté par différence est supérieure ou égale à 95%, la pureté par différence étant obtenue par soustraction des teneurs en impuretés en acides aminés, lipides et cendres, à la valeur de pureté absolue, ladite valeur de pureté absolue étant égale à 100%.
- 30 6. Procédé d'obtention de chitine et/ou chitosan, à partir d'insectes, comprenant les étapes suivantes :
 - la séparation des cuticules de la partie molle des insectes, puis
 - le traitement basique des cuticules.
- 35 7. Procédé selon la revendication 6, dans lequel la séparation des cuticules de la partie molle des insectes est effectuée à l'aide d'un séparateur à bande.
8. Procédé selon la revendication 6, dans lequel la séparation des cuticules de la partie molle des insectes est effectuée à l'aide d'un filtre presse.

9. Procédé selon l'une quelconque des revendications 6 à 8, dans lequel le traitement basique est réalisé avec une base forte.
- 5 10. Procédé selon l'une quelconque des revendications 6 à 9, dans lequel le traitement basique est réalisé à une température comprise entre 60 et 100°C.
11. Procédé selon l'une quelconque des revendications 6 à 10, dans lequel le traitement basique est réalisé pendant une durée comprise entre 5 et 60 heures.
- 10 12. Procédé d'obtention de chitine, à partir d'insectes, comprenant les étapes suivantes :
- l'abattage des insectes,
 - la séparation des cuticules de la partie molle des insectes,
 - le traitement basique des cuticules,

15 - la récupération de la chitine.
13. Chitine susceptible d'être obtenue par le procédé selon l'une quelconque des revendications 6 à 12.
- 20 14. Procédé d'obtention de chitosan, à partir d'insectes, comprenant les étapes suivantes :
- l'abattage des insectes,
 - la séparation des cuticules de la partie molle des insectes,
 - le traitement basique des cuticules,

25 - la récupération de la chitine,

 - la désacétylation de la chitine, et
 - la récupération du chitosan.
- 30 15. Chitosan susceptible d'être obtenu par le procédé selon l'une quelconque des revendications 6 à 11, 14.