



Le chitosane

Un nouvel antimicrobien pour la filière viande ?

Le chitosane est un polymère non toxique, biocompatible, bioactif et biodégradable. Même si son utilisation est encore timide sur le marché européen, son potentiel dans la filière viande en tant qu'antimicrobien /antioxydant est indéniable.

La biopréservation ou bioprotection est une méthode de conservation des aliments faisant appel à des micro-organismes ou à des « composés naturels » par opposition à l'utilisation de conservateurs dits « chimiques » classiquement utilisés dans les industries agroalimentaires.

Comme toute autre méthode de conservation, les antimicrobiens d'origine naturelle doivent permettre de réduire/stopper la croissance de flores pathogènes ou d'altération sans pour autant compromettre les qualités organoleptiques et nutritionnelles du produit tout au long de sa durée de vie.

À ce jour, il existe différentes voies possibles pour la biopréservation :

- les micro-organismes tels que les bactéries lactiques ;
- les bactériocines qui sont des peptides bactériens. Seule la nisine fait l'objet d'une autorisation d'utilisation limitée dans le secteur laitier ;
- les bactériophages : virus capables d'infester et de se multiplier dans les bactéries ;
- les systèmes enzymatiques naturels tels que le système lactoperoxydase ;
- les composés naturels comme les épices, les huiles essentielles ou encore le chitosane.

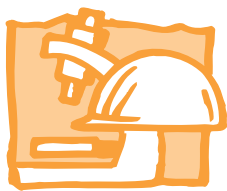
Pour limiter le développement des bactéries pathogènes et d'altération, les Américains ont recours à différentes méthodes de décontamination : acides, vapeur, bactéries lactiques..., procédés non autorisés en Europe. L'emploi d'antimicrobiens d'origine naturelle offre donc une piste intéressante pour la filière viande en vue de maîtriser davantage l'écosystème des produits carnés. Par ailleurs, le caractère biosourcé de ces composés qui répond à une attente en pleine croissance de la part des consommateurs les promet à un bel avenir.

CHRIKI S.¹ RIVOLLIER M.²,
MICHAUD Ph.¹

¹Laboratoire de Génie chimique et biochimique,
Université Blaise Pascal, Polytech Clermont Ferrand,
Avenue des Landais, 63174 AUBIÈRE, France

²Adiv, 10, rue Jacqueline Auriol,
63039 CLERMONT FERRAND cedex 2, France

Science et technique



PRÉSENTATION DU CHITOSANE

Le chitosane est un biopolymère non toxique, biocompatible, bioactif et surtout biodégradable obtenu à partir d'un polysaccharide très répandu dans le milieu naturel : la chitine. Cette dernière est en effet considérée comme le polysaccharide le plus abondant après la cellulose avec laquelle elle partage un caractère insoluble. D'un point de vue structural le chitosane, la chitine et la cellulose sont extrêmement proches, chitosane et chitine étant des polymères de glucosamine et de N acétyl glucosamine à des taux variables pouvant s'assimiler à des formes aminées de cellulose (figure 1). Le faible taux d'acétylation du chitosane lui confère une caractéristique unique dans la grande famille des polysaccharides : celle d'être cationique et soluble à pH acide (pH < 5,5). Il est obtenu par transformation de la chitine qui est la forme naturelle et non cationique du chitosane. La chitine est le constituant essentiel de l'exosquelette des arthropodes et de l'endosquelette des céphalopodes mais elle est également très présente dans les parois fongiques. Les principales sources industrielles de ce polysaccharide sont des coproduits de l'industrie de la pêche tels que les plumes de calmars et les carapaces de crustacés qui sont ainsi valorisées après déminéralisation et désacétylation. Il existe 65 producteurs de chitosane à l'échelle mondiale qui produisent environ 10 000 tonnes par an de ce type de produit ce qui représente 95 % du marché. En France, la société France Chitine a une capacité de production de l'ordre de 500 tonnes par an. Dans une moindre mesure, on assiste également à des développements en ce qui concerne l'extraction de la chitine fongique pour l'industrie cosmétique et pharmaceutique. Ainsi, la société Kitozyme basée en Belgique produit différentes gammes de chitosane exclusivement d'origine fongique. Le développement de ces produits, plus coûteux à extraire, est justifié par leur haut degré de pureté et par l'absence de tout pouvoir allergène.

Les applications actuelles du chitosane sont très larges puisqu'elles vont de la cosmétique aux traitements de dépollution des eaux usées (figure 2). Cependant, à l'heure actuelle, les filières les plus abouties concernent les biomatériaux, la préservation des aliments et la nutraceutique. Dans ce

Figure 1
STRUCTURE DE LA CHITINE (a), DU CHITOSANE (b)
ET DE LA CELLULOSE (c)

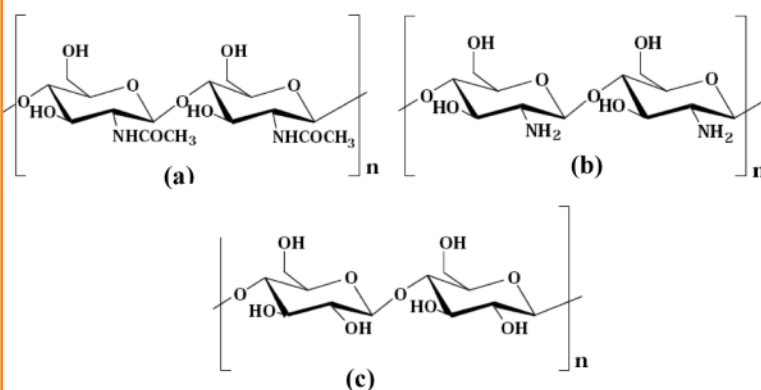
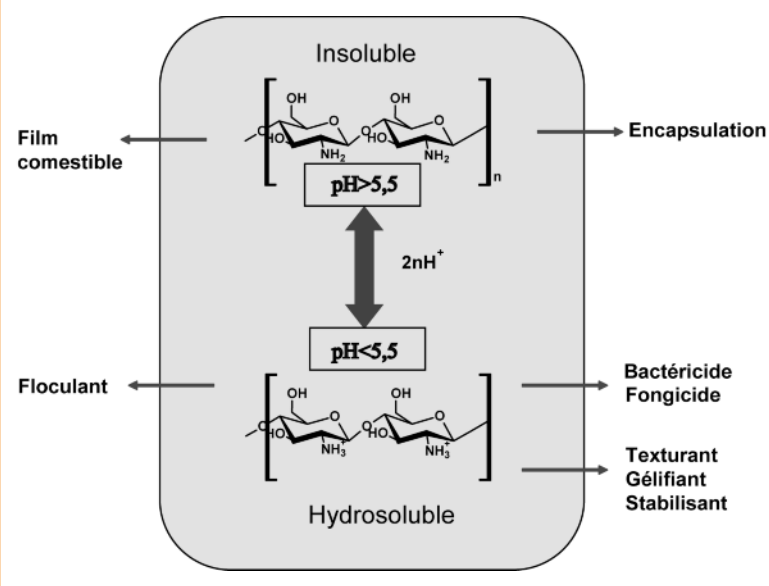


Figure 2
APPLICATIONS ALIMENTAIRES DU CHITOSANE

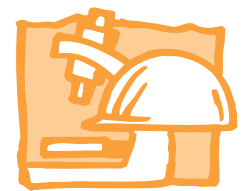


dernier cas, le chitosane est distribué sous la forme de gélules pour des utilisations comme amaigrissant via le piégage des acides gras par interaction électrostatique à pH acide dans le bol alimentaire. On estime qu'1 g de chitosane peut piéger jusqu'à 15 g d'acides gras qui ne pourront pas être assimilés et seront donc évacués par les voies naturelles. Un comportement similaire mais moins bien compris est décrit avec le cholestérol. Cette propriété d'établir des interactions ioniques avec les composés anioniques est également exploitée dans le traitement des eaux et l'industrie des jus de fruits (clarification et deacidification). La filière biomatériaux s'intéresse aussi très fortement à la chitine et au chitosane dans des domaines très variés tels que celui de la médecine qui exploite leurs pro-

priétés de biocompatibilité, de biodégradabilité et antimicrobiennes. En effet, le chitosane est doté d'un important pouvoir antimicrobien qui lui permet également de trouver certaines applications en industrie alimentaires. Le potentiel du chitosane dans la biopréservation des produits carnés fait l'objet de cet article.

PROPRIÉTÉS ANTIMICROBIENNES ET ANTIOXYDANTES DU CHITOSANE (MÉCANISME)

L'activité antimicrobienne du chitosane a été abondamment décrite et publiée ces dernières années pour son action contre une large variété de micro-organismes incluant des espèces bactériennes et fongiques. Une activité bactéricide a clairement



pu être identifiée chez des flores pathogènes ou d'altération incluant des Gram+ (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*) et des Gram- (*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella thyphimurium*, *Shigella dysenteriae*,...). L'action antimicrobienne apparaît comme fortement dépendante des caractéristiques du chitosane utilisé (origine, degré de polymérisation, pourcentage de résidus N acétylés) et des facteurs environnementaux tels que la teneur en eau de la matrice alimentaire et surtout son pH. Concernant les tailles de molécules, il a été clairement démontré par plusieurs auteurs que les chitosanes de faibles masses molaires ($1 < M_w < 10$ kDa) sont plus actifs comme antimicrobiens que les chitosanes macromoléculaires. Cependant les oligomères de très petites tailles ($M_w < 1$ kDa) se révèlent totalement inactifs (Shahidi et al., 1999). Le mécanisme exact par lequel l'activité antimicrobienne s'exerce est encore assez mal connu mais passe à l'évidence par des interactions ioniques avec des composés bactériens anioniques (membranes, protéines, acides nucléiques,...) intra ou extracellulaires. Le chitosane agit également comme agent chélateur d'anions pouvant éliminer de l'environnement bactérien certains métaux à l'état de traces mais indispensables à la croissance et/ou à la production de toxines. Les concentrations antimicrobiennes décrites dans la littérature sont très variables du fait des variations de chitosanes utilisés et de l'environnement physico-chimique. On constate que le maximum d'activité est observé pour des concentrations de chitosane fortement désacétylé (degré de désacétylation > 70 %) à des concentrations comprises entre 0,1 et 1 %. Dans ces conditions, l'effet observé est clairement bactéricide. À titre d'exemple, l'application de chitosane à 0,2 g/L réduit de 2 à 4 log la population d'*E. coli* pour des durées d'exposition comprises entre 2 min et une heure (Shahidi et al., 1999).

L'utilisation du chitosane comme antimicrobien, notamment dans la filière viande peut également se justifier par son pouvoir antioxydant plus récemment identifié. La viande est en effet une matrice alimentaire très sensible aux phénomènes d'oxydation qui vont toucher principalement les acides gras insaturés et certaines protéines. Ce rancissement se traduit alors par une détérioration de la flaveur et de la couleur de la viande. Les

mécanismes mis en jeu dans cette activité antioxydante du chitosane et surtout de certains de ses dérivés comme le carboxyméthyl chitosane sont encore assez mal décrits et semblent être liés d'une part au caractère cationique de ces macromolécules et d'autre part à leur pouvoir chélateur. Ainsi le carboxyméthyl chitosane en chélatant le fer libre issu des hémoprotéines libérées lors du stockage et/ou de la préparation de la viande va fortement ralentir le pouvoir catalyseur de ces ions sur le rancissement. L'action stabilisatrice des fonctions amines du chitosane sur les aldéhydes volatiles issus de la dégradation des acides gras insaturés semble également primordiale. Ici les molécules les plus actives auront des masses molaires assez faibles comprises entre 1 et 10 kDa (Rao et al., 2008; Shahidi et al., 1999).

LÉGISLATION

La législation relative à l'emploi du chitosane comme agent de biopréservation des aliments est variable en fonction des pays. Il est utilisé au Japon comme conservateur dans de nombreux produits alimentaires (Borderias et al., 2005; Roller et al., 1999) et est autorisé comme auxiliaire technologique dans la plupart des pays occidentaux (Europe, Amérique du nord, Australie, Nouvelle-Zélande). Depuis 1983, la United States Food and Drug Administration (USFDA) a approuvé son utilisation comme additif pour l'alimentation animale (Knorr, 1986) et l'a récemment reconnu comme GRAS (Generally Recognised As Safe) (Anonymous, 2001). En France comme en Europe, la réglementation reste encore floue et même si le chitosane est vendu librement dans le domaine de la nutraceutique, une demande d'autorisation reste à établir pour une mise en œuvre comme additif alimentaire.

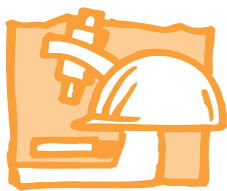
ESSAIS SUR PRODUITS CARNÉS

À ce jour, plusieurs équipes ont travaillé sur l'effet antimicrobien du chitosane dans des produits carnés. Après des tests préalables sur des bouillons de viande dans lesquels des inactivations complètes de *E. coli* ont pu être observées (Wang, 1992), des essais ont été réalisés sur des viandes inoculées ou non avec des flores pathogènes et/ou d'altération. Dans ces conditions, le chitosane utilisé à

1% réduit la flore bactérienne de 3 log CFU/g pour la viande porcine conservée à 7 °C (Sagoo et al., 2002) et de 1 à 2 log CFU/g pour la viande de bœuf conservée à 4 °C pendant 10 jours (Darmadji et al., 1994). Le taux de contamination des viandes au moment de l'application du chitosane est apparu comme déterminant pour son activité. L'activité antimicrobienne du chitosane sur les levures s'est révélée plus importante que sur les bactéries Gram+, elles-mêmes plus sensibles que les Gram- (Sagoo et al., 2002; Kanatt et al., 2008a; 2008b; Aggag et al., 2006; Devlieghere et al., 2004; Takashi et al., 2008). Dans ce contexte, l'Unité Mixte Technologique (UMT) « Génie alimentaire et biochimique des produits carnés » associant l'Adiv, le Laboratoire de Génie chimique et biochimique (LGCB) de l'Université Blaise Pascal et l'Unité Qualité des produits animaux (QuaPA) de l'Inra, a entamé une étude de faisabilité visant à valider le potentiel du chitosane comme agent antimicrobien et antioxydant dans les viandes marinées. Dans un premier temps, des tests réalisés in vitro sur *Escherichia coli*, *Pseudomonas spp* (Gram-), et *Listeria innocua* et *Brochothrix thermosphacta* (Gram+) ont montré qu'à partir de concentration de chitosane de l'ordre de 0,2 % on assiste à une inactivation totale ou partielle (entre 1 et 3 log CFU/mL) des souches testées. Ces résultats encourageants qui se poursuivent actuellement sur des flores pathogènes (*Listeria monocytogenes* et *Salmonella*) seront prochainement suivis de tests sur des marinades de viandes bovines inoculées artificiellement avec des flores pathogènes et d'altération.

ASPECTS FILMS ET BIOMATERIAUX

Par emballages actifs, on fait référence à l'incorporation de certains additifs dans le système d'emballage, qu'ils soient dispersés, fixés à l'intérieur sous forme de sachet ou pastille, ou encore incorporés au matériau lui-même (Cognasse, 2009). Le but est de maintenir et/ou d'accroître la qualité du produit ainsi que sa durée de conservation. Si la plupart de ces emballages actifs sont encore en développement, ils préfigurent une évolution radicale qui verra les matériaux assurer eux-mêmes la protection des produits qu'ils contiennent. On parle d'emballages actifs en Europe depuis plus de 10 ans, au



Japon et aux États-Unis depuis plus de 25 ans. Le Japon est le pays le plus avancé dans ce domaine et les films alimentaires antimicrobiens contenant du chitosane sont devenus très courants. Sur les marchés européens, peu de réalisations sont réellement disponibles malgré l'intense activité de recherche. Des travaux menés au niveau européen dans le cadre du programme FAIR-CT98-4170 ACTIPAK, ont permis d'évaluer l'impact, l'efficacité et l'acceptation des emballages actifs et intelligents sur le marché des produits agroalimentaires. Il s'avère, d'après les résultats obtenus, que l'intégration de ces emballages arrive sur le marché de la consommation en douceur. En effet, il faut laisser le temps nécessaire pour que la législation européenne s'adapte et que le consommateur les adopte. Actuellement, les emballages actifs sont soumis au règlement européen CE 1935/2004 qui régit les matériaux et objets à entrer en contact avec les denrées alimentaires. Une réglementation spécifique devrait voir le jour en 2009 afin de faciliter le développement des emballages actifs tout en l'encadrant. À ce jour, nous ne sommes pas en mesure de savoir si les films plastiques et emballages

comestibles à base de chitosane feront ou non partie de cette liste positive.

La viande étant à la fois une denrée alimentaire périssable à courte DLC (Date Limite de Consommation) et un substrat idéal pour la croissance des flores d'altération (*Pseudomonas*, *Brochothrix*) et des germes pathogènes (*Listeria*, *Salmonelle*, *Escherichia coli* O157 : H7), l'utilisation d'emballages dits "actifs" représente une solution intéressante pour maîtriser la charge microbienne, limiter les phénomènes d'oxydation et donc augmenter la durée de vie des produits carnés. En outre, ces nouvelles technologies sont, pour les industriels agroalimentaires de la filière viande, un atout pour éviter des crises alimentaires surmédiatisées et ayant de lourdes conséquences économiques.

L'utilisation de films alimentaires biodégradables, bioactifs et comestibles est actuellement source d'innovation pour augmenter la qualité des produits frais, surgelés et transformés. Ces films permettent également de contrôler les variations physiologiques, morphologiques et physico-chimiques intervenant sur les produits alimentaires. Du fait de leurs

propriétés filmogènes exceptionnelles, la chitine et le chitosane ont été utilisés avec succès comme emballage alimentaire.

CONCLUSION

Même si le chitosane et tous ses dérivés n'ont pas encore réellement percé sur le marché des additifs, auxiliaires technologiques ou ingrédients alimentaires, leurs potentialités dans la filière des antimicrobiens, antioxydants ou dans celle des films actifs et comestibles est indéniable. Il est cependant clair que les propriétés de ce biopolymère sont fortement liées à son environnement physico-chimique et à ses caractéristiques intrinsèques telles que son degré de polymérisation. Une meilleure connaissance des relations structures fonctions apparaît donc comme essentielle pour une bonne maîtrise d'utilisation de ces macromolécules biosourcées dans des niches technologiques encore peu occupées. Certains produits carnés pourraient constituer à l'avenir ce type de niche de par un environnement physico-chimique optimal pour potentialiser l'effet du chitosane notamment comme antimicrobien.

B I B L I O G R A P H I E

AGGAG ME, FAWZI MA, FANAKI NH, OMAR HG AND GOUDA DR. Some Factors Affecting the Antimicrobial Activity of Chitosan. N.Egypt.J.Microbiology (2006).

ANONYMOUS. 2001. US Food and Drug Administration. Center for Food Safety and Applied Nutrition, Office of Premarket Approval, GRAS Notices received in 2001, <http://vm.cfsan.fda.gov>.

BORDERIAS AJ, SANCHEZ-ALONSO I, PEREZ-MATEOS M. New applications of fibers in foods : Addition to fishery products. Trends Food Sci. Technol. 16 (2005) 458 – 465.

DARMADJI P, IZUMIMOTO M. Effect of Chitosan in Meat Preservation. Meat Science. 38 (1994) 243-254.

DEVLIEGHIERE F, VERMEIREN L, DEBEVERE J. New preservation technologies : Possibilities and limitations. Int. J. Dairy. 14 (2004) 273-285.

KNORR D. Nutritional quality, food processing and biotechnology aspects of chitin and chitosan : a review, Proc. Biochem. 6 (1986) 90-92.

COGNASSE O., Les emballages deviennent actifs — L'Usine Nouvelle- n°3132, février 2009, pp 50-52.

RAO MS, CHANDER R, SHARMA A. Synergistic effect of chitooligosaccharides and lysozyme for meat preservation. LWT-Food Sci. Technol. 41 (2008) 1995-2001.

ROLLER S, COVILL N. The antifungal properties of chitosan in laboratory media and apple juice, Int. J. Food Microbiol. 47 (1999) 67 – 77.

SAGOO S, BOARD R, ROLLER S. Chitosan inhibits growth of spoilage micro-organisms in chilled pork products. Food Microbiol. 19 (2002) 175-182.

SHAHIDI F, ARACHCHI JKV, JEON Y-J. Food applications of chitin and chitosans. Trends Food Sci. Technol. 10 (1999) 37-51.

KANATT SR, CHANDER R, SHARMA A. Chitosan and mint mixture : A new preservative for meat and meat products. Food Chem. 107 (2008a) 845-852.

KANATT SR, CHANDER R, SHARMA A. Chitosan glucose complex – A novel food preservative, Food Chem. 106 (2008b) 521-528.

TAKASHI K, HIROSHI I, HIROSHI N, MITSUTOSHI N, SEIGO S, SUKEKUNI M, SOSAKU I. Selective and stable production of physiologically active chitosan oligosaccharides using an enzymatic membrane bioreactor. Process Biochem. 43 (2008) 62-69.

WANG, G-H. Inhibition and inactivation of five species of foodborne pathogens by chitosan. Journal of Food Protection. 55 (1992) 916-919.