

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحر وتهيئة الساحل
École Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral



**Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme
D'Ingénieur en Sciences de la Mer et aménagement de littorale
Option: biotechnologie marine**

Thème :

Traitement des eaux contaminées par *Legionella pneumophila* avec le chitosane
produit à partir des coproduits de crustacés

Présenté par :

DJABRI Ghada

FARAH Lila

Soutenu le 05/10/2023 devant le jury composé de :

Pr. BOULEHDIDE M	Professeur	(ENSSMAL)	Président.
Dr. ALAMIR H	Maitre de recherche	(IPA)	Promotrice.
Mme AMROUCHE L.	Maitre assistante A	(ENSSMAL)	Co-promotrice.
Mme MAOUEL D.	Responsable Incubateur	(ENSSMAL)	Examinatrice.
Mr ZEGHACHE A.	Maitre-assistant A	(ENSSMAL)	Examineur.
Mme BENABBOU A.	(IPA)	Invitée.

Année universitaire : 2022-2023

Remerciements

Nous exprimons notre gratitude à Allah, Le Tout-Puissant et Le Miséricordieux, pour toutes les bénédictions et bienfaits généreusement accordés dans nos vies.

Tout d'abord, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude envers Mme ALAMIR H pour sa supervision dévouée de ce projet et son engagement exceptionnel envers son succès. De même, nous remercions sincèrement Mme AMROUCHE L pour sa précieuse contribution tout au long de notre formation, en particulier pendant la réalisation de ce projet de fin d'études. Leurs conseils avisés, leur patience inestimable et leur soutien constant ont joué un rôle fondamental dans notre réussite académique. Nous sommes véritablement honorés d'avoir eu la chance de bénéficier de leur expertise. Enfin, la présence professionnelle de Mme BENABBOU A a ajouté une touche de professionnalisme à toutes les étapes de notre réalisation, que nous tenons également à saluer chaleureusement.

Nous souhaitons également exprimer notre sincère gratitude à :

Pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant la présidence du jury.

Pour avoir gentiment accepté d'examiner et d'évaluer ce modeste travail.

Nous exprimons notre profonde gratitude envers Mme GUERROUMI H, ingénieur au laboratoire de biochimie de l'ENSSMAL, pour son précieux soutien et sa disponibilité exceptionnelle tout au long des manipulations. Nous tenons également à remercier chaleureusement M. MATOUK Y.

Nous souhaitons également exprimer notre gratitude envers l'ensemble du personnel du service de bactériologie des eaux et des aliments de l'Institut Pasteur.

Nous tenons à remercier chaleureusement la poissonnerie ANNABI de TEBESSA et M. ALI BILT de la pêcheurie d'Alger pour leur précieuse assistance lors de la collecte des échantillons de carapaces de crevettes.

Nous exprimons notre reconnaissance envers M. KELAI L. du CRAPC pour son expertise et son précieux concours lors de l'analyse des différents échantillons.

En conclusion, nous souhaitons exprimer notre sincère reconnaissance et notre profonde gratitude envers toutes les personnes qui ont apporté leur contribution, directe ou indirecte, à la réalisation de ce projet.

Dédicace

A ma famille exceptionnelle et à mes amis précieux

Ce mémoire est le fruit de mon dévouement, de mes efforts acharnés et de ma persévérance, mais il n'aurait pas été possible sans votre amour inconditionnel, votre soutien indéfectible et votre constante en moi. Vous avez été mes piliers, ma motivation et ma source d'inspiration tout au long de cette aventure académique.

A mes très chers parents, qui m'ont offert un amour sans limite et une éducation solide, à ma mère, dont la bienveillance et les précieux conseils m'ont guidé à chaque étape de ce voyage, à mon père, dont la force et le soutien ont été mes points d'ancrage, et à ma sœur Rima, dont la présence a apporté de la joie et de l'équilibre dans ma vie, à mes frères Youcef et Faiz qui m'ont encouragé et inspiré avec le propre détermination, et à mes amis, qui ont partagé les hauts et les bas de ce voyage, je dédie ce mémoire avec un profond de reconnaissance

Vous avez été la source de ma force, de mon équilibre et de mon bonheur pendant cette période intense de ma vie, ce travail est un témoignage de notre amour de notre amitié et de notre soutien mutuel

Avec toute ma gratitude et mon affection

Farah Lila

Table des matières :

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction	1
Généralités.....	4
I.1 Production mondiale des produits de la mer	5
I.2 Valorisation biotechnologique des coproduits de la mer et enjeux économiques	5
I.2.1 Industrie agroalimentaire	5
I.2.2 Cosmétique	6
I.2.3 Pharmaceutique.....	6
I.2.4 Chimie verte.....	6
I.3 Présentation des espèces utilisées.....	7
I.4 Composition biochimique globale de la poudre de carapace de crevettes	9
I.4.1 Les protéines	9
I.4.2 Les glucides	9
I.4.3 Les lipides	10
I.4.4 Les minéraux.....	10
I.4.5 Les pigments	10
I.5 Les principales molécules à intérêt extraits à partir des coproduits des crustacés	10
I.5.1 La chitine	10
I.5.1.1 Sources et structure	11
I.5.2 Biosynthèse	13
I.5.3 Chitosane.....	13
I.5.3.1 Propriétés du chitosane.....	14
I.5.3.1.1 Propriétés physico-chimiques	14
I.5.3.1.2 Propriétés Biologiques	15
I.6 Diagramme d'extraction de la chitine et production du chitosane	19
I.7 <i>Legionella pneumophila</i>	20
I.7.1 Historique.....	20
I.7.2 Description générale, morphologie et croissance	20

I.7.3	Taxonomie	21
I.7.4	Ecologie des légionelles.....	21
I.7.4.1	Habitat naturel	21
I.7.4.2	Habitat artificiel.....	22
I.7.4.3	Les amibes.....	22
I.7.5	Epidémiologie	23
I.7.6	Pouvoir pathogène	23
I.7.6.1	La fièvre Pontiac	23
I.7.6.2	L'infection extra-pulmona.....	23
I.7.6.3	La légionellose ou maladie des légionnaires.....	23
I.7.7	Diagnostic	23
I.7.7.1	Diagnostic clinique.....	24
I.7.7.2	Diagnostic microbiologique	24
I.7.7.2.1	Types de prélèvements.....	24
I.7.7.2.2	Techniques utilisées	24
I.7.8	Contrôle des légionelles	26
I.7.9	Gestion du risque <i>Legionella</i>	26
I.7.9.1	Traitement thermique	27
I.7.9.2	Traitement physique.....	27
I.7.9.2.1	UV.....	27
I.7.9.2.2	Membrane de filtration	27
I.7.9.3	Traitement chimique	28
I.7.9.3.1	La chloration	28
Matériel et méthodes	30
II.1	Matériel	31
II.1.1	Matériel biologique.....	31
II.1.2	Matériel non biologique.....	31
II.2	Méthodes	32
II.2.1	Collecte et prétraitement de la matière première.....	32
II.2.1.1	Collecte des carapaces de crevettes	32
II.2.1.2	Prétraitement de l'échantillon	32
II.2.1.2.1	Nettoyage.....	33

II.2.1.2.2 Séchage	33
II.2.1.2.3 Broyage et tamisage.....	33
II.2.2 Détermination de la composition biochimique globale de la poudre de carapaces de crevettes	34
II.2.2.1 Détermination de la teneur en eau	34
II.2.2.2 Détermination de la teneur totale en matières minérales	35
II.2.2.3 Détermination de la teneur en lipides totaux	36
II.2.2.4 Détermination de la teneur en protéines totales	38
II.2.3 Extraction de la chitine et production du chitosane.....	39
II.3.1.1 Dépigmentation et délipidation.....	39
II.3.1.2 Déminéralisation	40
II.3.1.3 Déprotéinisation et désacétylation	41
II.2.4 Caractérisation du chitosane	41
II.2.4.1 Rendement massique du chitosane	41
II.2.4.2 Test de solubilité	41
II.2.4.3 Détermination du degré de déminéralisation :	42
II.2.4.4 Détermination du degré de déprotéinisation	42
II.2.4.5 Détermination du degré de désacétylation du chitosane produit	42
II.2.4.5.1 FTIR.....	42
II.2.4.5.2 RMN	43
II.2.4.6 Viscosité.....	43
II.2.4.7 Poids moléculaire.....	44
II.2.6 Traitement des Décontamination d'une eau contaminée par <i>Legionella pneumophila</i>	44
II.2.6.1 Revivification de la souche de <i>Legionella pneumophila</i>	44
II.2.6.1.1 Préparation de milieu de culture	44
II.2.6.1.2 Revivification de la souche.....	45
II.2.6.2 Elaboration des billes de chitosane humides	46
II.2.6.3 Caractérisation des billes de chitosane	47
II.2.6.3.1 Diamètres moyens des billes	47
II.2.6.3.2 Morphologie des billes par microscopie électronique à balayage MEB47	
II.2.6.3 Décontamination aux billes de chitosane à l'abri de la lumière	47

II.2.6.4 Décontamination aux billes de chitosane- UV solaires	48
II.2.7 Analyse microbiologique des eaux décontaminées	49
RESULTATS ET DISCUSSION	52
III.1 Identification de l'espèce	53
III.2 Composition biochimique globale des coproduits de crevettes étudiées.....	54
III.2.1 Teneur en eau	55
III.2.2 Teneur en minéraux totaux.....	56
III.2.3 Teneur en protéines totales.....	56
III.2.4 Teneur en lipides totaux	56
III.3 Caractérisation du chitosane produit.....	57
III.3.1 Rendement massique.....	57
III.3.2 Teste de solubilité.....	58
III.3.3 Degré de déminéralisation et de déprotéinisation du chitosane extrait.....	59
III.3.4 Degré de désacétylation du chitosane produit.....	59
III.3.4.1 FTIR.....	59
III.3.4.2 RMN	60
III.3.5 La viscosité.....	62
III.3.6 Poids moléculaire	63
III.4 Caractérisation des billes de chitosane	63
III.4.1 Diamètres moyens des billes	63
III.4.2 Morphologie de la poudre de chitosane et des billes par microscopie électronique à balayage MEB	64
III.5 Efficacité de la désinfection aux billes de chitosane des eaux contaminées par <i>L. pneumophila</i>	66
III.6 Détermination de la durée nécessaire pour la désinfection aux billes de chitosane-UV solaire d'une eau contaminée par <i>L. pneumophila</i>	70
Conclusion.....	72
Références	75
Business Model Canvas	89
Résumé	98

Liste des tableaux

Chapitre I : généralité

Tableau I.1 Taxonomie des deux espèces de crevettes étudiées	7
Tableau I.2 comparaison entre les deux espèces utilisées	9
Tableau I.3 les différentes sources avec leur teneur en chitine.....	12
Tableau I.4 tests utilisés dans le diagnostic de la maladie du légionnaire et leurs caractéristiques.	26
Tableau I.5 principale méthodes de traitement des circuits d'eau face aux contaminations à Legionella, leurs avantages et inconvénients	29

Chapitre II : matériel et méthodes

Tableau II.6 Matériel et réactifs utilisés	31
--	----

Chapitre III: Résultats et discussion

Tableau III.7 Critères distinctifs pour l'identification des deux espèces de crevettes étudiées	54
Tableau III.8 Composition biochimique globale des carapaces de crevettes des côtes algériennes	55
Tableau III.9 Rendement massique de chitosane extrait des carapaces de crevettes	57
Tableau III.10 Degré de déminéralisation et de déprotéinisation du chitosane produit	59
Tableau III.11: Degré de désacétylation du chitosane produit	61
Tableau III.12 Résultats des paramètres rhéologiques du chitosane produit	62
Tableau III.13 Diamètres des billes de chitosane (mm)	63
Tableau III.14 taux d'abattement de <i>L. pneumophila</i> dans les eaux traitées avec les différentes concentrations de billes de chitosane	66
Tableau III.15 Résultats du traitement avec 0,44g de chitosane	68
Tableau III.16 Détermination de la durée minimale pour la désinfection aux billes de chitosane-UV solaires des eaux contaminées par Legionella.	70

Liste des figures

Chapitre I : généralité

Figure I.1 les différentes espèces identifiées, a <i>Aristeus antennatus</i> , b <i>Parapenaeus longirostris</i> .	8
Figure I.2 Structure chimique de la cellulose et de la chitine	11
Figure I.3 Diagramme de diffraction des rayons X sur poudre (a) de la chitine a de la cuticule de crevette purifiée et (b) de la chitine b de l'enclos de calmar purifié séché.	12
Figure I.4 Relation structurelles entre la chitine (a) et le chitosane (b) (Rinaudo., 2006)	13
Figure I.5 Mécanisme antimicrobien supposé du chitosane (Abdel-Hack et <i>al.</i> , 2020)	18
Figure I. 6 mécanisme supposé de l'activité antifongique du chitosane sur les champigno	19
Figure I.7 <i>Legionella pneumophila</i> atteignant la taille de 20 μm	21
Figure I.8 cycle de vie de biofilms	22

Chapitre II : matériel et méthodes

Figure II.9 Diagramme de prétraitement des carapaces de crevettes	34
Figure II.10 détermination de la teneur en eau.....	35
Figure II.11 Détermination de la teneur en matière minérale.	36
Figure II.12 Principe de la méthode de Soxhlet	37
Figure II.13 Détermination de la teneur en lipides totaux.....	38
Figure II.14 Complexe entre le cuivre alcalin et les liaisons peptidiques.....	38
Figure II.15 Gamme étalon BSA pour dosage des protéines totales	39
Figure II.16 Etapes de Dépigmentation et délipidation.....	40
Figure II.17 Etapes de Déminéralisation.....	40
Figure II.18 Dispositif de Déprotéinisation et désacétylation	41
Figure II.19 préparation du milieu de culture de <i>L.pneumophila</i>	45
Figure II.20 Technique d'ensemencement.....	46
Figure II.21 Elaboration des billes de chitosane humides	46
Figure II.22 Désinfection aux billes de chitosane des eaux contaminées par <i>L. pneumophila</i>	48

Figure II.23 Désinfection aux billes de chitosane UV- Solaire des eaux contaminées par <i>L. pneumophila</i>	49
Figure II.24 principe de la filtration sur membrane.....	50
Figure II.25 dispositif de filtration sur membrane.....	51

Chapitre III : Résultats et discussion

Figure III.26 Composition biochimique globale des coproduits de crevettes	57
Figure III.27 Solubilisation du chitosane produit dans une solution acide à 1%	58
Figure III.28 Spectre FTIR du chitosane extrait.....	60
Figure III.29 Spectre RMN 1H du chitosane extrait.....	61
Figure III.30 Exemple du diamètre d'une bille humide du chitosane déterminé à l'aide d'un pied à coulisse	64
Figure III.31 micrographie MEB de la poudre de chitosane	64
Figure III.32 micrographie MEB des billes de chitosane	65
Figure III.33 micrographie MEB de la surface des billes de chitosane.....	65
Figure III.34 Micrographie TFE de l'état de surface des billes.....	66
Figure III.35 Taux d'abattement de <i>L. pneumophila</i> en fonction des différentes concentrations de chitosane.....	67
Figure III.36 Taux d'abattement de <i>L. pneumophila</i> avec 0.44g de chitosane.....	69
Figure III.37 Taux d'abattement de <i>L. pneumophila</i> après traitement billes de chitosane-UV solaires en fonction du temps (2H, 3H et 4H).....	70

Liste des abréviations :

°C : Degré celsius

ADN : acide désoxyribonucléique

ATCC : American Type Culture Collection;

BSA : sérum albumine bovin ;

CDC : centers for disease control and prevention (centres pour le contrôle et la prévention des maladies) ;

Cl: chlore ;

DA : degré de d'acétylation ;

DDA : degré désacétylation ;

DM : degré de déminéralisation ;

DP : degrés de déprotinisation ;

ECS : les réseaux d'eau chaude sanitaire ;

ELISA : enzyme- linked Immunosorbent Assay;

FAO: Food and Agriculture Organization;

FTIR :Spectroscopie Infrarouge à Transformation de Fourier ;

KBr : Bromure de potassium ;

KDa : kilodalton ;

LPS : lipopolysacaride ;

McF : Mcfarland ;

MEB: Microscopie électronique à balayage ;

Mip : macrophage infectivity potentiator ;

NaOH : Hydroxyde de sodium ;

PCR : Polymerase Chain Reaction ;

pH : potentiel Hydrogène ;

RMN : résonance magnétique nucléaire ;

SODIS : Solar Desinfection ;

TAR : les tours aéroréfrigérantes ;

UFC : Unité formant Colonie ;

UV : Ultraviolets ;

UDES : Unité de développement des Energies solaire.

DA : Dinar Algérien

Introduction

Introduction

La valorisation des coproduits de la mer est devenue une préoccupation majeure dans l'industrie alimentaire et de la pêche, car elle permet de réduire les déchets et d'augmenter la rentabilité économique. Le chitosane est l'un des produits les plus prometteurs issus de cette valorisation en raison de ses nombreuses applications dans différents secteurs, notamment la médecine, l'agriculture, la cosmétique et l'industrie alimentaire.

Le chitosane est obtenu à partir de la chitine, un polysaccharide présent dans la carapace de crustacés tels que les crevettes et les crabes. Il offre de nombreux avantages dans le traitement des eaux. Il agit en se liant à la membrane cellulaire des bactéries, perturbant ainsi leur croissance et leur reproduction. En formant des complexes avec les ions métalliques présents dans l'eau, le chitosane renforce son pouvoir antimicrobien. Les billes de chitosane, biodégradables et non toxiques, sont largement utilisées pour leur capacité à capturer efficacement une variété de polluants tels que les métaux lourds, les colorants et les substances organiques, grâce à leurs propriétés de sorption élevées.

De ce fait, elles offrent une solution prometteuse et durable, alliant sécurité environnementale et efficacité, pour le traitement des eaux contaminées par des bactéries pathogènes telles que *Legionella pneumophila*. Ce germe est responsable de la légionellose, une maladie respiratoire sévère qui peut être fatale chez les personnes ayant un système immunitaire affaibli. Cette bactérie se développe dans les eaux stagnantes et prolifère dans les installations sanitaires (robinets, douches, etc.), les systèmes de climatisation (tours de refroidissement, etc.), les jacuzzis et les fontaines. La contamination humaine se produit par inhalation d'aérosols contaminés. Le traitement de l'eau contaminée par *Legionella pneumophila* est donc crucial pour éviter l'infection.

Après la pandémie du COVID-19, de nombreux hôtels ont dû fermer leurs portes, laissant la stagnation des eaux favoriser la prolifération de ce genre de bactéries. Malheureusement, les méthodes actuelles de traitement demeurent insuffisantes. Le traitement chimique, tel que la chloration, est limité afin de ne pas atteindre des niveaux toxiques. Ce traitement semble aussi inefficace même quand il est associé à la chaleur, sans oublier que la durée de vie des canalisations et des installations sont très réduites avec ce type de traitement. De même en ce qui concerne le traitement biologique qui a montré ses limites car les bactéries deviennent de plus en plus résistantes aux traitements biocides.

C'est ainsi que l'idée d'exploiter les propriétés antibactériennes, antifongiques et adsorbantes du chitosane a émergé, conduisant à un procédé innovant et écologique de traitement des eaux.

Bien qu'actuellement la production nationale des crustacés ne représentent qu'à peine 2%, les projets aquacoles futurs sont très prometteurs. Par ailleurs, la côte algérienne est également confrontée à des espèces invasives, comme le crabe bleu, un crustacé offrant un rendement élevé pour l'extraction de la chitine et la production ultérieure de chitosane.

L'objectif principal de cette étude est donc la valorisation biotechnologique des coproduits de crevettes en produisant du chitosane qui servira de matériau de base pour l'élaboration des billes qui seront utilisées seules ou en combinaison avec les énergies renouvelables (UV solaires) dans la désinfection des eaux contaminées par les légionnelles. Il s'agira également de déterminer les conditions optimales pour un maximum d'abattement de la charge bactérienne.

Ce projet de fin d'étude est structuré en cinq parties principales :

Le premier chapitre de ce mémoire est consacré à l'étude de la valorisation biotechnologique des coproduits de la pêche et de l'aquaculture, ainsi qu'à l'analyse des enjeux économiques associés au niveau international. Dans cette section, une attention particulière est accordée aux espèces de crustacés utilisée. De plus, cette partie offre un aperçu complet sur la chitine et le chitosane, leurs structures distinctives ainsi que leurs caractéristiques biologiques et physico-chimiques. En fin de ce chapitre on retrouvera un aperçu sur la bactérie *Legionella pneumophila*, Il aborde également les techniques utilisées pour le traitement de l'eau contaminée par cette bactérie.

Le deuxième chapitre de ce mémoire se focalise sur la collecte, l'identification et le prétraitement de la matière première utilisée, ainsi que l'analyse de sa composition biochimique. De plus, il décrit les traitements chimiques employés pour extraire la chitine et produire le chitosane, tout en mettant en avant sa caractérisation et son utilisation en tant qu'adsorbant dans la désinfection des eaux contaminées par *Legionella pneumophila*.

Le troisième chapitre est dédié à la présentation des résultats obtenus au cours des expériences menées, accompagnée d'une discussion détaillée.

En conclusion, une synthèse globale des résultats obtenus est présentée, mettant en évidence les découvertes clés de l'étude. Des perspectives de recherche et de développement sont également abordées, offrant des pistes pour de futures investigations dans le domaine.

Généralités

I.1 Production mondiale des produits de la mer

Selon le rapport de la FAO "La Situation mondiale des pêches et de l'aquaculture 2022", la valeur totale à la première vente de la production d'animaux aquatiques dans le secteur de la pêche et de l'aquaculture a été estimée à 406 milliards d'USD en 2020, dont 265 milliards d'USD pour l'aquaculture. En 2020, la production mondiale de l'aquaculture marine et côtière a atteint 68,1 millions de tonnes, avec 33,1 millions de tonnes d'animaux aquatiques et 35,1 millions de tonnes d'algues. Cette production totale de l'aquaculture comprenait 87,5 millions de tonnes d'animaux aquatiques destinés principalement à l'alimentation humaine. La production totale de poisson (pêche et aquaculture) a atteint un record de 214 millions de tonnes en 2020, dont 178 millions de tonnes d'animaux aquatiques. Les prévisions indiquent que la production mondiale de poisson devrait augmenter de 14 %, passant de 179 millions de tonnes en moyenne de 2019 à 2021, à 203 millions de tonnes en 2031. En 2018, la production de crustacés issus de la pêche était de 6,1 millions de tonnes, tandis que celle issue de l'aquaculture était de 6,9 millions de tonnes, représentant environ 7 % de la production totale de la pêche et de l'aquaculture cette année-là. Les données spécifiques sur la production de crustacés issus de l'aquaculture ne sont pas fournies.

Dans le rapport de la FAO. En 2020, la production mondiale de crustacés a atteint 11,2 millions de tonnes, d'une valeur de 81,5 milliards de dollars américains. L'aquaculture des crustacés représente 7,25 % de la quantité et 21,45 % de la valeur de la production totale de l'aquaculture. La Chine est le principal producteur mondial de poisson d'élevage, y compris de crustacés, représentant plus de 60 % de la production aquacole mondiale. Selon les prévisions de Robin McIntosh de CP Foods, la production mondiale de crevettes dépassera les 5 millions de tonnes métriques en 2022. (<https://www.fao.org/3/cb1447en/cb1447en.pdf>)

I.2 Valorisation biotechnologique des coproduits de la mer et enjeux économique

La valorisation des coproduits de poisson peut offrir plusieurs débouchés économiques, notamment en :

I.2.1 Industrie agroalimentaire : les coproduits de poisson peuvent être utilisés pour produire des farines et des huiles de poisson, des compléments alimentaires, des aliments pour animaux, des sauces et des soupes ainsi que des charcuteries. Ces produits sont conçus à partir de diverses parties marines sous-utilisées, comme les têtes, les arêtes, les viscères, les peaux, les coquilles et les carapaces. Bien que l'industrie agroalimentaire soit très intéressée par ces coproduits de la mer,

leur valorisation est souvent entravée par des réglementations restrictives. Néanmoins, plusieurs initiatives ont été lancées pour encourager la valorisation des coproduits marins, notamment dans le cadre de la bioéconomie bleue. Des études ont également été réalisées pour évaluer la viabilité technique et financière de l'utilisation agroalimentaire des coproduits provenant des usines de transformation de la crevette nordique.

I.2.2 Cosmétique : l'industrie cosmétique manifeste une forte demande pour les coproduits marins en raison de leurs propriétés bénéfiques telles que l'hydratation, la nutrition et l'exfoliation. Des entreprises comme Copalis Industrie, une filiale du groupe SCOGAL spécialisée dans la transformation haut de gamme des coproduits marins, se sont spécialisées dans l'utilisation de ces coproduits pour la fabrication de produits cosmétiques à haute valeur ajoutée. Des crèmes hydratantes, masques pour le visage, gommage, shampoing et après shampoing et des savons peuvent être produit à base des coproduits de la mer.

I.2.3 Pharmaceutique : les coproduits de poisson peuvent être utilisés pour produire des médicaments, tels que des anticoagulants et des anti-inflammatoires.

Divers coproduits marins offrent des opportunités de valorisation dans l'industrie grâce à leurs propriétés bénéfiques. Les peptides antimicrobiens extraits des peaux de poissons et des carapaces de crustacés possèdent des propriétés antimicrobiennes efficaces pour combattre les infections bactériennes. Les polysaccharides extraits des algues et des coquilles de crustacés présentent des propriétés anti-inflammatoires et peuvent être utilisés pour le traitement des maladies inflammatoires chroniques. Les acides gras oméga-3 extraits des huiles de poisson possèdent des propriétés anti-inflammatoires et peuvent être utilisés pour traiter les maladies cardiovasculaires. Enfin, les caroténoïdes extraits des carapaces de crustacés possèdent des propriétés antioxydantes, offrant une protection contre les maladies liées au stress oxydatif.

I.2.4 Chimie verte : les coproduits de poisson peuvent être utilisés pour produire des bioplastiques, des biocarburants et des produits chimiques biosourcés et contribue aux réductions de l'empreinte carbone.

À l'heure actuelle, de nombreuses entreprises se consacrent à l'utilisation des sous-produits de poisson dans la fabrication d'aliments tels que SIFCO, Copalis, Guelt Process, Valofish et Reunipeche. (Raheriniaina et *al.*, 2014).

En général, les principaux composés issus des coproduits de crevettes sont 15% à 40% de chitine, 20% à 40% de protéines et 20% à 50% de minéraux. Les pigments, les lipides et autres sels métalliques se trouvent à des taux plus bas. Étant donné que ces coproduits sont à haute valeur

ajoutée, la bioconversion de cette ressource facilement accessible et renouvelable a attiré beaucoup d'intérêt pour assurer une pêche durable et améliorer la rentabilité des activités de la filière (BRÜCK *et al.*, 2010)

Il existe aujourd'hui environ plus de 70 sites de production de chitine à l'échelle industrielle dans le monde, implantés principalement au Japon et en Asie-Pacifique. Ils travaillent sur une matière première issue de crustacés et principalement de crevettes. Le marché mondial des dérivés de la chitine a atteint 63 milliards de dollars en 2021. Parmi les marchés porteurs, celui du traitement de l'eau (30 % de la part de marché du chitosane). La demande croissante de produits dans les applications de traitement de l'eau en raison de sa biodégradabilité, de son caractère non toxique et de sa disponibilité permet de prévoir une augmentation importante de la taille du marché du chitosane d'ici 2024. (Fleurence., 2023)

I.3 Présentation des espèces utilisées

Les espèces de crevettes pêchées en Algérie sont *Aristeus antennatus* et *Parapeneaus longirostris*. Elles occupent actuellement la position taxonomique décrite ci-dessous proposée par (INPN,2020).

Tableau I.1 : Taxonomie des deux espèces de crevettes étudiées (INPN,2020)

Non vernaculaire	Crevette rouge	Crevette rose du large
Régne	<i>Animalia</i>	<i>Animalia</i>
Embranchement	<i>Arthropoda</i>	<i>Arthropoda</i>
Classe	<i>Malacostraca</i>	<i>Malacostraca</i>
Ordre	<i>Decapoda</i>	<i>Decapoda</i>
Famille	<i>Aristeidae</i>	<i>Penaeidae</i>
Genre	<i>Aristeus</i>	<i>Parapeneaus</i>
Espèce	<i>Aristeus antennatus</i> (Risso, 1816)	<i>Parapeneaus longirostris</i> (Lucas, 1846)

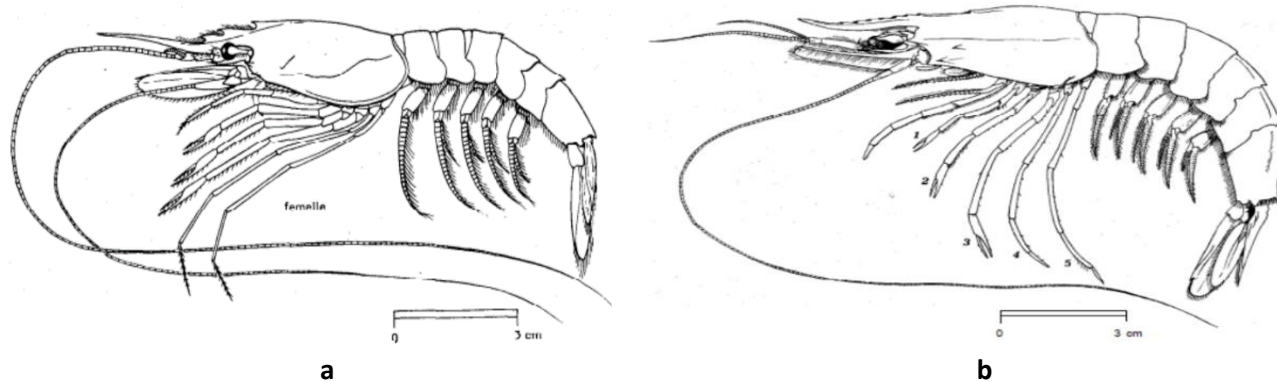


Figure I.1 : les différentes espèces identifiées, a *Aristeus antennatus*, b *Parapenaeus longirostris*. (FAO., 2022)

La crevette *Parapenaeus longirostris* et la crevette *Aristeus antennatus* sont deux espèces de crevettes largement répandues en Méditerranée. Bien qu'elles appartiennent toutes les deux à la famille des *Penaeidae*, elles présentent certaines différences en termes de taille, d'habitat et de valeur commerciale, s'expriment dans le tableau suivant :

Tableau I.2: comparaison entre les deux espèces utilisées. FAO (FISHER., 1987)

	<i>Aristeus antennatus</i> (Risso, 1816)	<i>Parapenaeus longirostris</i> (Lucas, 1846)
Morphologie	Rostre plus court par rapport à sa taille globale. Son corps est plus trapu et robuste, avec des segments abdominaux moins distincts. Les premières paires de pattes thoraciques de cette crevette sont plus développées et munies de pinces plus grandes et plus puissantes	Rostre long, d'où provient son nom spécifique "longirostris". Son corps est de forme plutôt fusiforme et allongée, avec des segments abdominaux bien définis. Les premières paires de pattes thoraciques de cette crevette sont munies de pinces relativement petites.
Couleur	Rougeâtre au brun plus intense.	Teinte rose à brun clair
Taille	Longueur moyenne d'environ de 15 à 20 centimètres	Longueur moyenne d'environ 7 à 10 centimètres
Habitat	Entre 200 et 800 mètres	Entre 10 et 150 mètres,
Reproduction	Hermaphrodite protandrique. La fécondation externe	Gonochorique. Par fécondation externe.

I.4 Composition biochimique globale de la poudre de carapace de crevettes

La composition biochimique totale de la poudre de carapace de crevette peut varier en fonction de plusieurs facteurs, tels que l'espèce de crevette, le lieu de récolte, les méthodes de traitement et les conditions de stockage. Cependant, en général, la poudre de carapace de crevette contient principalement les composants suivants :

I.4.1 Les protéines

IL a été démontré que les carapaces des crevettes contiennent tous les acides aminés essentiels nécessaires à la croissance et au maintien de la santé humaine, notamment la lysine, la méthionine et la thréonine (Ye et al., 2012 ; Chen et al., 2013).

De plus, une étude comparative a révélé que la poudre de carapace de crevette présentait une teneur en acides aminés totaux supérieure à celle de la farine de poisson, de la farine de soja et de la farine de maïs (Su et al., 2016).

I.4.2 Les glucides

La poudre de carapace de crevette est composée de polysaccharides, en particulier de la chitine. La chitine est un polysaccharide complexe présent dans l'exosquelette des crustacés.

I.4.3 Les lipides

Les lipides constituent généralement moins de 5% de la composition de la poudre de carapace de crevettes. Parmi les lipides présents, on retrouve principalement des acides gras saturés tels que l'acide palmitique et l'acide stéarique.

I.4.4 Les minéraux

La poudre de carapace de crevette est une source riche en minéraux, tels que le calcium, le phosphore, le magnésium, le potassium, le zinc et le cuivre. Ces minéraux jouent un rôle essentiel dans la santé osseuse, dentaire, cardiovasculaire, musculaire, nerveuse, immunitaire et dans la cicatrisation des plaies. Leur présence dans la poudre de carapace de crevette en fait une option intéressante pour compléter l'apport nutritionnel en minéraux (Ogunleye *et al.*, 2018; Giri *et al.*, 2020; González *et al.*, 2020)

I.4.5 Les pigments

La poudre de carapace de crevettes peut contenir des pigments naturels qui contribuent à sa couleur. Les principaux pigments présents sont les astaxanthines et les caroténoïdes. Les astaxanthines sont des pigments de la famille des xanthophylles, responsables de la couleur rouge orangé caractéristique de certaines espèces de crevettes (Chou *et al.* (2018)). Les caroténoïdes, tels que la lutéine et la zeaxanthine, sont également présents et peuvent contribuer à des nuances de couleur allant du jaune à l'orange. Li *et al.* (2016) Ces pigments sont étudiés pour leurs propriétés antioxydantes et leurs effets bénéfiques sur la santé (Wang *et al.* (2020)

I.5 Les principales molécules à intérêt extraits à partir des coproduits des crustacés

I.5.1 La chitine

C'est le principal composant structurel des espèces marines (mollusques crustacés et Invertébrés marins) et d'autres espèces (algues champignons et insectes), identifié pour la première fois en 1884.

La chitine, l'homopolymère à liaison β -1,4 de la N-acétylglucosamine (GlcNAc) (20), est le polymère le plus abondant dans le milieu marin et le deuxième dans la nature après la cellulose (Merzendorfer et Zimoch 2003)

En effet, elle présente une parenté structurelle avec la cellulose, qui est également un polysaccharide linéaire constitué de résidus de glucose liés par des liaisons β (1-4). La différence entre les deux réside dans le fait que la chitine contient un groupe amino (NH_2) attaché au carbone 2 du glucose, tandis que la cellulose ne contient pas de groupe amino, ce qui confère à la chitine des propriétés chimiques et physiques uniques, telles que sa capacité à former des liaisons hydrogène avec d'autres molécules de chitine.

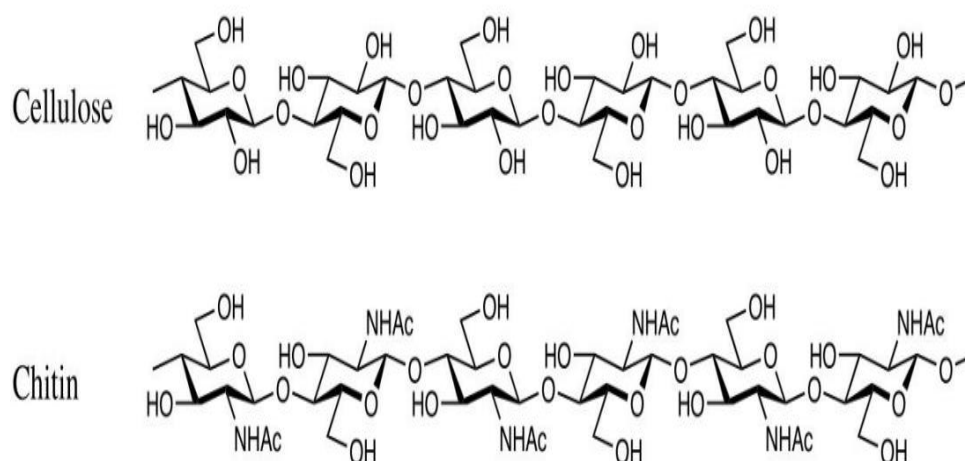


Figure I.2 : Structure chimique de la cellulose et de la chitine

I.5.1.1 Sources et structure

D'après sa source, la chitine existe sous deux formes appelées allomorphes, à savoir les formes a et b, ainsi que la forme g. Ces différentes formes peuvent être distinguées par des techniques telles que la spectroscopie infrarouge, la RMN à l'état solide et la diffraction des rayons X. (Figure I.3)

L'a-chitine est le type de chitine le plus répandu. On le trouve principalement dans les parois cellulaires des champignons, des levures, du krill, des tendons, des carapaces de homard, de crabe et de crevettes, ainsi que dans la cuticule des insectes. Il est également présent dans divers organismes marins tels que les harpons des escargots coniques, les épines de préhension orale de *Sagitta* et les filaments éjectés entre autres par l'algue *Phaeocystis*. Ces chitines ont présenté une cristallinité élevée et une pureté remarquable, étant synthétisées sans pigments, protéines ou calcite. En plus de la chitine native, l'a-chitine peut résulter de la recristallisation en solution, de la biosynthèse *in vitro* ou de la polymérisation enzymatique (Rinaudo 2006).

La b-chitine, moins courante, est associée à des protéines dans les enclos des calmars et dans les tubes synthétisés par les vers pogonophores et vestimetifères (Rinaudo 2006).les principales sources de chitine ainsi que sa teneur moyenne est reportées dans le tableau ci-dessous.

Tableau I.3: les différentes sources avec leur teneur en chitine

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

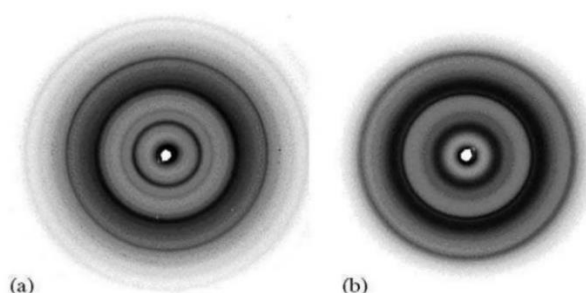


Figure I.3 : Diagramme de diffraction des rayons X sur poudre (a) de la chitine a de la cuticule de crevette purifiée et (b) de la chitine b de l'enclos de calmar purifié séché.

I.5.2 Biosynthèse

La biosynthèse de la chitine est un processus complexe qui implique plusieurs enzymes et voies métaboliques.

Les principales étapes sont les suivantes (Merzendorfer and Zimoch 2003, Doucet et Retnakaran 2012)

1. Formation de la N-acétylglucosamine : La première étape de la biosynthèse de la chitine est la formation de la N-acétylglucosamine (GlcNAc) à partir du glucose. Cette réaction est catalysée par une enzyme appelée N-acétylglucosamine-phosphate mutase.
2. Polymérisation de la chitine : Une fois que la GlcNAc est formée, plusieurs molécules de GlcNAc se lient entre elles par des liaisons glycosidiques pour former des chaînes de chitine. Cette polymérisation est catalysée par une enzyme appelée chitin synthase.
3. Modification de la chitine : Après la polymérisation, la chitine peut subir différentes modifications post-synthétiques, telles que l'acétylation et la désacétylation, qui affectent les propriétés physiques et chimiques de la chitine

I.5.3 Chitosane

Le chitosane est obtenu par désacétylation de la chitine. En fait, le terme chitosane fait référence à tout copolymère de monomères de glucosamine B-D liés par des liaisons glycosidiques (1o 4) avec moins de 50 % d'acétylation. (Figure I.4) (Rinaudo., 2006)



Figure I.4 : Relation structurelles entre la chitine (a) et le chitosane (b) (Rinaudo., 2006)

I.5.3.1 Propriétés du chitosane

I.5.3.1.1 Propriétés physico-chimiques

I.5.3.1.1.1 Viscosité

La viscosité du chitosane augmente avec l'augmentation de la température, la concentration et le degré de désacétylation ; plus il y'a de désacétylation plus il y a des groupes amines libres plus le chitosane est facile à dissoudre et plus la viscosité est élevée. De sorte que nous pouvons obtenir l'influence du pH : plus le pH est bas, plus la viscosité compte (Younes and Rinaudo 2015)

I.5.3.1.1.2 Solubilité

La solubilité du chitosane dépend de la valeur du DD, de la force ionique, du pH et de la nature de l'acide utilisée ainsi que de la distribution des groupes acétyles le long de la chaîne macromoléculaire (Rinaudo, 2006).

La solubilité du chitosane est limitée dans l'eau neutre, mais peut être améliorée en utilisant des solutions acides. Des études ont montré que le chitosane peut être rendu soluble dans des solutions acides telles que l'acide lactique, l'acide acétique (à 1% avec un pH proche de 4), l'acide glutamique, l'acide chlorhydrique (à 1% avec un pH allant jusqu'à 6,5), l'acide formique (de 0,2% à 100%), et l'acide nitrique dilué. (Mao, et *al.*, 2004)

I.5.3.1.1.3 Cristallinité

La cristallinité du chitosane, généralement évaluée par diffraction des rayons X, joue un rôle déterminant dans plusieurs propriétés, notamment l'accessibilité des sites internes dans les chaînes macromoléculaires, les propriétés de gonflement dans l'eau et les propriétés de diffusion. Le chitosane présente généralement une structure semi-cristalline et cristallise dans un système orthorhombique (Aljawish, 2013)

I.5.3.1.1.4 Poids moléculaire

Le poids moléculaire du chitosane peut varier considérablement en fonction de facteurs tels que la source de la chitine, la méthode de préparation du chitosane et les conditions de production. En général, le poids moléculaire moyen du chitosane se situe entre 100 KDa et 1 000 KDa.

Cependant, il existe également des formes de chitosane à faible poids moléculaire (environ 1000 à 10 000 daltons) qui peuvent être obtenues par dégradation enzymatique ou chimique du chitosane de poids moléculaire plus élevé (Hosseinnejad and Jafari 2016)

I.5.3.1.1.5 Degré de désacylation

Le degré de désacétylation (DD) correspond au ratio entre les groupes acétylés et non acétylés dans le chitosane. Plusieurs techniques sont utilisées pour déterminer le DD, telles que la spectroscopie IR, l'analyse élémentaire, la RMN solide ou liquide, le dosage UV, le titrage colloïdal et la titration potentiométrique (Boualem et Hocine, 2018).

I.5.3.1.2 Propriétés Biologiques

I.5.3.1.2.1 Biocompatibilité

La chitine et le chitosane sont des biomatériaux prometteurs dans une variété d'applications biomédicales, telles que la régénération tissulaire, la libération de médicaments et l'ingénierie tissulaire. Les principales études réalisées sur la bio-compatibilité du chitosane sont résumées ci-après :

Li et al. (2019) ont évalué l'effet de l'ajout d'agents de réticulation sur les propriétés de biocompatibilité du chitosane. Les résultats ont montré que l'ajout d'un agent de réticulation améliorerait la biocompatibilité du chitosane et améliorerait également sa capacité à libérer des médicaments, indiquant son potentiel dans les applications d'administration de médicaments

Tan et *al.* (2020) ont examiné l'effet de la taille des particules de chitosane sur sa bio-compatibilité. Les résultats ont montré que les particules de chitosane plus petites avaient une meilleure biocompatibilité que les plus grandes particules, ce qui suggère que la taille des particules de chitosane doit être prise en compte lors de la conception de matériaux biomédicaux.

Ghasemzadeh, et Yazdian (2021) ont examiné l'effet de l'ajout de nanoparticules d'argent au chitosane. Les résultats ont montré que les nanoparticules d'argent amélioreraient la bio-compatibilité du chitosane, ce qui pourrait améliorer son utilisation en tant que biomatériau pour les applications médicales.

Enfin, le chitosane avait des effets bénéfiques sur la prolifération cellulaire et la différenciation des ostéocytes, suggérant son potentiel pour des applications de régénération osseuse (Zhang et *al.*, 2021).

I.5.3.1.2.2 La biodégradabilité

La chitine et le chitosane sont dégradés par des enzymes telles que la chitinase et le lysozyme, qui les décomposent en unités de glucose.

Des bactéries chitinolytiques ont été isolées dans divers environnements tels que le sol, les sources chaudes, le compost et les déchets de crustacés. Parmi ces bactéries, on retrouve des genres tels que *Alteromonas*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Escherichia*, *Paenibacillus*,... Dans les milieux aquatiques, des bactéries marines telles que *Bacillus*, *Vibrio*, *Paenobacillus*, *Pseudoalteromonas*, *Aeromonas* jouent un rôle clé dans la dégradation de la chitine. Les champignons, tels que *Mucor*, *Aspergillus*, *Penicillium* et *Trichoderma*, contiennent égachitinases fongiques dans leur paroi cellulaire. Pour se protéger contre l'autolyse, ces micro-organismes produisent des protéines hydrophobes, notamment la QID74, qui se trouvent dans la paroi cellulaire. De plus, ils produisent des protéines de liaison aux hydrates de carbone qui se lient aux oligosaccharides courts et à la chitine, assurant ainsi leur protection.

Par ailleurs, les conditions environnementales telles que le pH, la température et la disponibilité des nutriments influencent la biodégradabilité du chitosane. Les produits de dégradation du chitosane, à savoir le dioxyde de carbone et l'eau, sont non toxiques et peuvent être assimilés par les micro-organismes présents dans le sol et l'eau, ce qui en fait un matériau respectueux de l'environnement (Pandit et al. 2021)

I.5.3.1.2.3 Humidité élevée

Exprimé par leur pouvoir à former des liaisons hydrogènes avec les molécules d'eau ce qui est connu sous le nom de l'hygroscopicité, L'humidité du chitosane est influencée par plusieurs facteurs, tels que le degré de désacétylation (DD), le poids moléculaire (MW) et les conditions environnementales. Le chitosane ayant un DD plus élevé ont une plus grande capacité d'absorption d'humidité par rapport à ceux ayant un DD plus faible (Aranaz et al., 2019). De plus, il a été observé que les chitosanes de faible poids moléculaire ont une plus grande affinité pour l'humidité que ceux de poids moléculaire élevé (Nguyen et al., 2013).

I.5.3.1.2.4 Propriétés analgésiques

Le chitosane a démontré des effets prometteurs dans l'inhibition de la transmission de la douleur en ciblant les récepteurs de la douleur et en modulant les voies de signalisation nociceptives.(Bernkop-Schnürch et Dünnhaupt 2012). De plus, il a été observé que le chitosane possède des propriétés anti-inflammatoires et peut réduire l'inflammation et l'œdème associés à la douleur. (Younes et Rinaudo 2015)

I.5.3.1.2.5 Antitumorales

L'activité anticancéreuse du chitosane est attribuée à sa structure chimique qui comprend deux groupes fonctionnels actifs : le groupe amine et le groupe hydroxyle.

Ces groupes fonctionnels permettent au chitosane d'interagir avec les charges négatives présentes sur les membranes des cellules cancéreuses et les jonctions serrées. Cette interaction améliore la perméabilité de la membrane cellulaire, ce qui facilite la pénétration des médicaments adsorbés sur le chitosane à l'intérieur des cellules cancéreuses (Muanprasat et Chatsudthipong., 2017). Des études ont montré que le chitosane inhibe la viabilité des cellules cancéreuses du côlon et induit une arrestation du cycle cellulaire, ce qui empêche la prolifération des cellules tumorales (Liu et *al.*, 2018). De plus, le chitosane a démontré des effets inhibiteurs sur la formation de vaisseaux sanguins dans les tumeurs, ce qui est crucial pour la croissance et la propagation tumorales.

I.5.3.1.2.6 Hémostatique

Le chitosane a démontré une activité hémostatique, c'est-à-dire sa capacité à favoriser la coagulation sanguine et à arrêter les saignements. En raison de ses propriétés physiques et chimiques, le chitosane peut former un gel visqueux lorsqu'il entre en contact avec le sang, ce qui favorise l'adhésion plaquettaire et l'agrégation des plaquettes. De plus, le chitosane peut également activer le système de coagulation en favorisant la formation de fibrine, une protéine qui aide à la formation du caillot sanguin.

I.5.3.1.2.7 Hypocholestérolémiques

Le chitosane a été étudié pour son activité hypocholestérolémiante, c'est-à-dire sa capacité à réduire les niveaux de cholestérol dans le sang. Plusieurs études ont montré que le chitosane peut se lier aux acides biliaires et aux lipides alimentaires, ce qui limite leur absorption intestinale (Zhang et *al.* 2012). Cela entraîne une diminution du cholestérol sérique total et du cholestérol LDL, également connu sous le nom de "mauvais cholestérol". De plus, le chitosane peut stimuler l'excrétion du cholestérol par les selles, favorisant ainsi son élimination du corps.(Jaffer et Sampalis., 2007)

I.5.3.1.2.8 Antibactérienne

L'activité bactéricide du chitosane est influencée par le type de micro-organisme, agissant contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Le chitosane marin présente une activité plus élevée que le chitosane fongique de *Rhizopus oryzae*.(Hosseinnejad et Jafari 2016). Le mécanisme précis de l'action antibactérienne du chitosane n'est pas entièrement compris, mais il est possible qu'il agisse en formant des films comestibles qui retardent la croissance des micro-organismes. Ces films biopolymères peuvent être associés à d'autres agents antimicrobiens tels que les

bactériocines, les acides naturels, les extraits de plantes pour réduire le gaspillage alimentaire et améliorer la durée de conservation.

Les films à base de chitosane sont biodégradables et peuvent être utilisés dans l'emballage des produits alimentaires, offrant des propriétés mécaniques protectrices contre la détérioration des aliments. (Figure I.5).

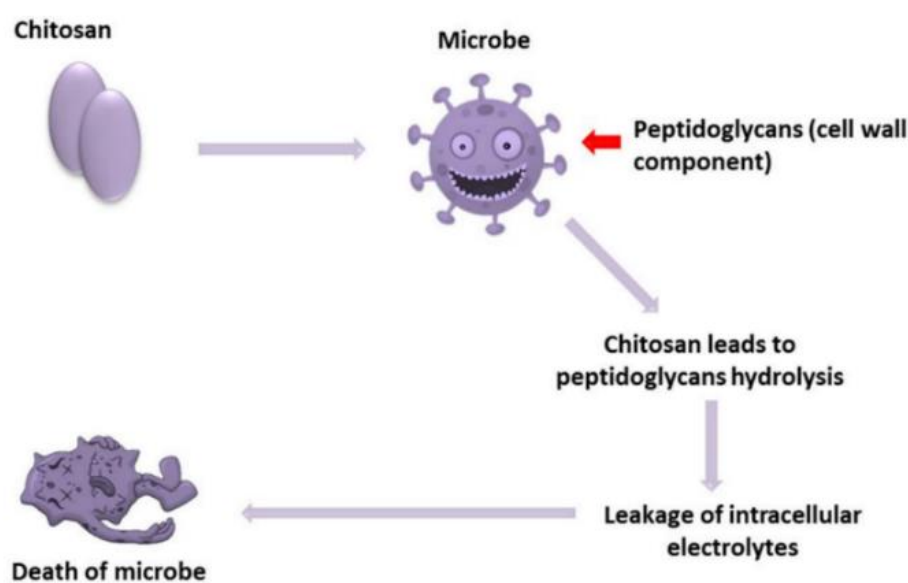


Figure I.5 : Mécanisme antimicrobien supposé du chitosane (Abdel-Hack et *al.*, 2020)

I.5.3.1.2.9 Antioxydantes

L'activité antioxydante du chitosane dépend fortement de son poids moléculaire. Ils ont observé que cette activité augmentait lorsque le poids moléculaire diminuait, atteignant son niveau le plus élevé (Sun et *al.*, 2008). Cette augmentation est due au fait que les chaînes plus courtes du chitosane ont moins tendance à former des liaisons hydroxyle intramoléculaires. Ainsi, elles possèdent des groupes hydroxyles et amines plus actifs, contribuant ainsi à une meilleure capacité de piégeage des radicaux. Le greffage de l'acide gallique sur le chitosane a amélioré la capacité de piégeage du DPPH (89,5 %) et sa puissance réductrice ($A_{700} = 0,51$) (Schreiber et *al.*, 2013)

I.5.3.1.2.10 Antifongique

Le chitosane présente une activité fongistatique en inhibant la germination des spores, la croissance et l'allongement des tubes des moisissures et des champignons. Son mécanisme d'action dépend de la structure de la paroi cellulaire (Qin et Guo 2020). De plus, le chitosane agit généralement plus rapidement sur les champignons que sur les bactéries (Tan et *al.*, 2017)

Les dérivés du chitosane modifiés, tels que les biocomposites de nanotubes de carbone à parois multiples, ont montré une activité antifongique très puissante contre *Cryptococcus* (Mohamed and Abd El-Ghany., 2018) (**Figure I.6**)

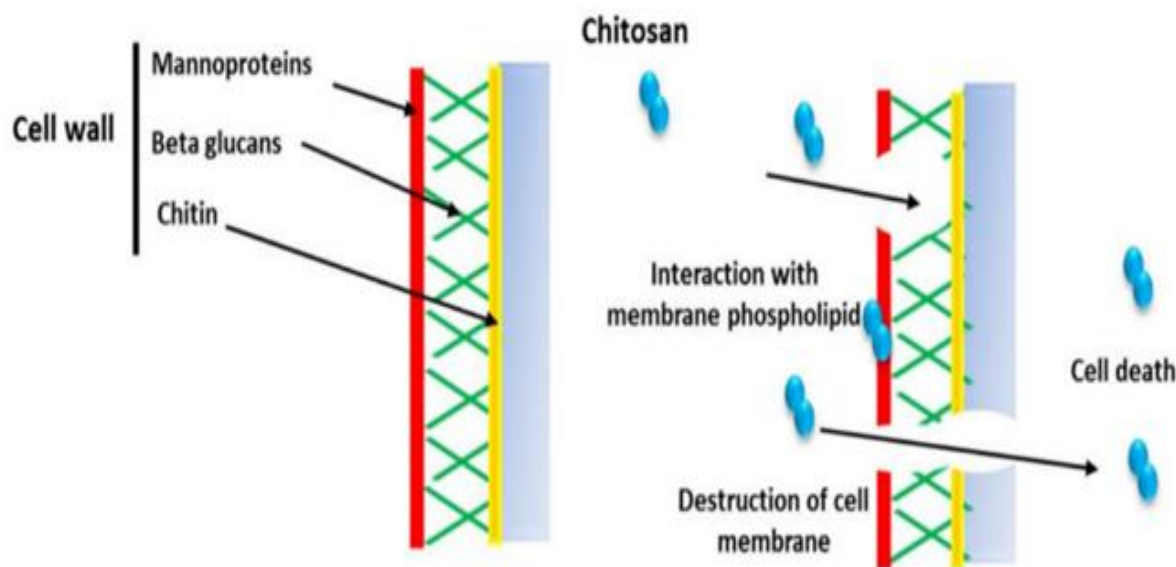


Figure I. 6 : mécanisme supposé de l'activité antifongique du chitosane sur les champignons (Abd El-Hack et al., 2020)

I.5.3.1.2.11 Mucoadhesion

Le mucus est principalement constitué d'une glycoprotéine appelée mucine, qui contient des résidus acides sialiques et présente une charge négative. Dans l'estomac, le chitosane acquiert une charge positive en raison de l'environnement acide, ce qui lui permet d'interagir avec la mucine par des forces électrostatiques. Des études ont montré que plus le poids moléculaire du chitosane est élevé, plus sa capacité à pénétrer dans la couche de mucine est élevée, renforçant ainsi son pouvoir mucoadhésif. De plus, un degré de désacétylation plus élevé conduit à une augmentation de la densité de charge de la molécule de chitosane, ce qui améliore ses propriétés adhésives. (Hijazi., 2014)

I.6 Diagramme d'extraction de la chitine et production du chitosane

Le procédé d'extraction repose sur la déminéralisation, la déprotéinisation et la désacétylation. Pour les réaliser, de nombreuses combinaisons de concentration en réactifs, durée, température et ratio réactif/substrat ont été testées (LE ROUX., 2012)

I.7 Legionella pneumophila

I.7.1 Historique

Le genre *Legionella* a été découvert suite à une épidémie de pneumonie grave en 1976 (Newton et *al.*, 2010) .Parmi les participants à une convention de la légion américaine à Philadelphie, en Pennsylvanie. L'épidémie a entraîné 182 cas de maladie, dont 29 décès et l'hospitalisation de 147 personnes (Fraser et *al.*, 1977).

La convention c'était déroulée à L'hôtel de Stratford-Bellevue, un hôtel de luxe de style renaissance française qui était le lieu habituel de réunion des grands congrès républicains ou démocrates. Il était équipé d'un système de climatisation depuis 1954. La source de la bactérie n'a pas été trouvée, mais l'analyse épidémiologique suggérait une éventuelle exposition au système de climatisation dans le hall de l'hôtel ou dans la zone entourant immédiatement l'hôtel.(McDade et *al.*, 1977)

La bactérie responsable de cette épidémie a été découverte par Josef McDade et son équipe. Elle a été nommée *Legionella pneumophila* et la maladie qu'elle engendre maladie des légionnaires ou légionellose. Le CDC a ensuite annoncé la découverte de cette nouvelle bactérie le mardi 18 janvier 1977 (McDade et *al.*, 1977).

I.7.2 Description générale, morphologie et croissance

Les légionelles sont des bacilles à Gram négatif, aérobies strictes non sporulées, non capsulées, mobiles grâce à la présence d'un ou plusieurs flagelles en position polaire ou latérale. Leur taille varie de 0,2 à 0,9 μm de large sur 2 à 20 μm de long. (**Figure I.7**)

Cinquante-trois espèces comprenant 70 sérogroupes ont été identifiées. 90% des cas humains de légionellose sont dus au séro groupe 1 de l'espèce pneumophila (Jamilloux et *al.*, 2012). Elles sont cependant incapables de synthétiser la L-cystéine, de réduire les nitrates ou de fermenter le glucose (Fliermans., 1996). Pour une croissance et une multiplication optimale, elles ont besoin d'un apport en fer et en L-cystéine, d'un milieu tamponné à pH 6,9 et d'une température de 37°C (Feeley et *al.*, 1979).



Figure I.7 : *Legionella pneumophila* atteignant la taille de 2 μm
(<https://www.osha.gov/legionnaires-disease>)

I.7.3 Taxonomie

L. pneumophila est l'espèce la plus connue. Elle est responsable de plus de 90% des cas de légionellose et plus de 84% des cas sont même occasionnés par des isolats du séro groupe 1 (Epalle.,2015). La classification simplifiée de ce germe est comme suit :

Phylum : Protéobacteria

Ordre : Legionellale

Famille : Legionellaceae

Genre : Legionella

Espèce : *Legionella pneumophila*

I.7.4 Ecologie des légionelles

I.7.4.1 Habitat naturel

Les légionelles sont principalement des microorganismes aquatiques, qui se retrouvent naturellement dans diverses sources d'eau, telles que les lacs, les rivières et les sources thermales. Elles peuvent également être présentes dans des environnements tels que les eaux souterraines, les eaux usées, le sol et les eaux de pluie. Dans les milieux naturels elles sont généralement retrouvées en faible proportion (Van Heijnsbergen et *al.*, 2014).

I.7.4.2 Habitat artificiel

L.pneumophila a été retrouvée dans un large éventail d'habitats aquatiques artificiels (Newton et al., 2010), colonisant des milieux anthropiques tels que les réseaux d'eau sanitaire, les tours de refroidissement, les systèmes de distribution d'eau et les bains à remous, où les conditions de croissance sont favorables à sa prolifération en raison de facteurs tels que la température (entre 25 et 45°C), le pH (entre 5,5 et 8,5), la présence de protozoaires ou d'autres micro-organismes, la forte concentration en matière organique et inorganique ainsi que l'eau stagnante. Tous ces paramètres favorisent le développement de biofilms dans lesquels elles peuvent éventuellement persister (Abdel-Nour et al., 2013, (McCoy et al., 1981). Ces écosystèmes sont à l'origine de la propagation des légionelles et, par conséquent, de la contamination humaine (Akermi et al., 2006).

(Figure I. 8)

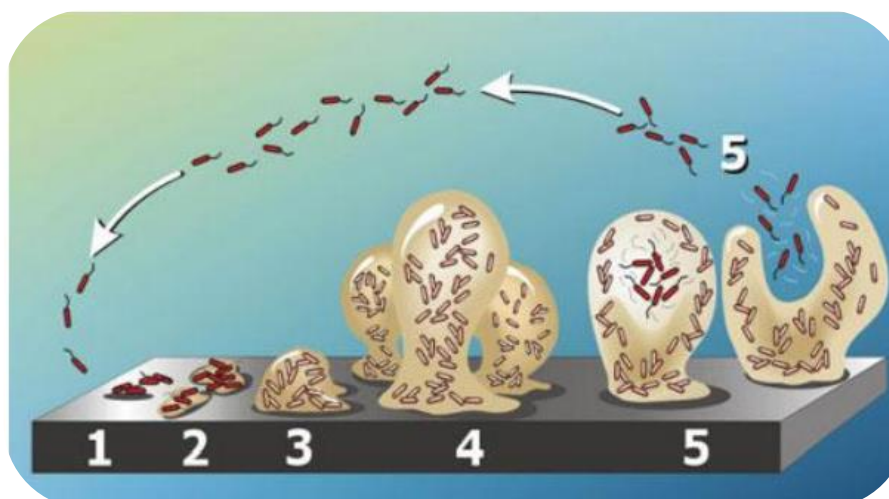


Figure I.8 : cycle de vie de biofilms (Stoodley et al., 2002), (1) : adhésion (2) : croissance en surface (3) et (4) : maturation (5) : dispersion

I.7.4.3 Les amibes

Les espèces de *Legionella* ne peuvent pas se multiplier de manière extracellulaire dans l'environnement, mais elles se multiplient dans les cellules hôtes, qui peuvent inclure 13 espèces d'amibes et 2 espèces de protozoaires (Abu Kwaik et al., 1998). Les légionelles sont protégées à l'intérieur de ces cellules hôtes lorsque les conditions environnementales deviennent défavorables, telles que des températures trop élevées ou trop basses, une faible teneur en nutriments ou une exposition à des produits chimiques tels que le chlore. Les amibes semblent donc jouer un rôle majeur dans la survie, la multiplication et la dispersion des légionelles (Molmeret et al., 2005).

I.7.5 Epidémiologie

Il n'y a aucune preuve de transmission interhumaine de la maladie des légionnaires, l'infection étant acquise principalement par inhalation d'aérosols contenant des organismes viables. L'incidence de la maladie des légionnaires dépend de plusieurs facteurs, dont l'étendue de la contamination du réservoir d'eau par l'organisme, la sensibilité de la population exposée à cette eau et le degré ou l'intensité de l'exposition du patient au réservoir d'eau (Tai et al., 2012)

I.7.6 Pouvoir pathogène

La Légionnelle est l'origine de 3 entités clinique distinctes :

I.7.6.1 La fièvre Pontiac : c'est une forme bénigne de la légionellose, pseudo-grippale (Kaufmann et al., 1981) et sans pneumonie.

Avec une courte période d'incubation de 2 à 5 jours (Tossa et al., 2006), elle se manifeste par de la fièvre, des frissons, des céphalées et des myalgies. D'autres symptômes ont également été recensés à travers différents épisodes de fièvre de Pontiac tels que les douleurs abdominales, rougeurs oculaires avec photophobie (Castor et al., 2005) ainsi que des troubles gastro-intestinaux.

I.7.6.2 L'infection extra-pulmonaire : c'est une forme clinique rare mais très grave (Muder and Yu., 2002), correspond à la dissémination de *Legionella* à d'autres organes (Sire, Staub, and Christmann 1994) : atteintes digestives (Leluc et al., 2000), arthritiques (Bemer et al., 2002), rénales (Allen et al. 1985) et cardiaque. Le cœur étant le site extra pulmonaire le plus fréquemment touché (Gowani et al., 2013). Cette forme de la maladie peut ou non présenter une pneumonie selon le cas.

I.7.6.3 La légionellose ou maladie des légionnaires : est une infection pulmonaire aiguë, dont la période d'incubation varie de 2 à 10 jours (McDade et al., 1977, Diederer., 2008, Joseph et al., 2010). Elle débute généralement par des symptômes similaires à ceux de la grippe, telles que fièvre, toux sèche, céphalées, myalgies et anorexie. Ensuite un tableau clinique plus sévère se manifeste, caractérisé par une fièvre élevée, des malaises, des douleurs abdominales et parfois des troubles neurologiques tels que le délire ou la confusion. Le taux de mortalité est estimé à 15% mais peut atteindre 80% chez certains patients selon la sévérité des signes cliniques, le statut immunitaire du patient et le choix du traitement antibiotique (Akermi et al., 2006).

I.7.7 Diagnostique

I.7.7.1 Diagnostique clinique

Il n'y a pas de signe clinique spécifique de la légionellose. Elle se manifeste essentiellement par une pneumonie d'évolution progressive et sévère ainsi que par la présence de signes extra respiratoires (30 % des cas) qui attirent l'attention (Fraser et *al.*, 1977). De plus, la littérature rapporte que 40 à 50 % des patients atteints de légionellose et présentant des signes extra respiratoires développent une manifestation neurologique liée à la maladie (Johnson, Raff, and Van Arsdall., 1984). Cependant, la fréquence des signes ne dépasse pas 10% au cours des pneumopathies aiguës communautaires d'étiologie différente (Guleria et *al.*, 2005), (Jamilloux et *al.*, 2012)

I.7.7.2 Diagnostique microbiologique

I.7.7.2.1 Types de prélèvements

Les prélèvements peuvent provenir principalement de l'arbre respiratoire, mais ils peuvent également être du sérum ou des urines du patient. Il est essentiel de les recueillir de manière aseptique et de les envoyer au laboratoire dans les plus brefs délais.

Si le délai de transport est d'environ 30 minutes ou plus, le prélèvement peut être conservé au réfrigérateur à une température de +4°C. Cependant, si ce délai dépasse 24 à 48 heures, il doit être congelé à une température d'au moins -20°C. (Fanjeaux., 2010)

I.7.7.2.2 Techniques utilisées

I.7.7.2.2.1 Culture et isolement

Cette méthode est fortement recommandée car elle permet l'identification de toute les espèces de légionnelle, la recherche sur l'épidémie ou même les tests de sensibilité antibactérienne (Amodeo, Murdoch, and Pithie., 2010). Cependant, la culture nécessite des milieux spéciaux, un traitement adéquat des échantillons et une expertise technique. Le milieu standard utilisé pour la culture de légionnelle à partir d'échantillons cliniques est une gélose tamponnée à l'extrait de levure de charbon de bois additionnée d'acide cétylglutarique, de colorant et d'agent antimicrobiens (Jomehzadeh et *al.*, 2019), les premiers résultats apparaissent après 3 à 10 jours (Fanjeaux., 2010)

I.7.7.2.2 La recherche d'antigène urinaire

Actuellement, c'est la méthode la plus utilisée dans la clinique en raison de sa rapidité elle permet de détecter la présence de la légionellose en un tour de temps relativement court. En effet, le test donne un résultat positif dans les 24 à 72 heures suivant l'apparition des symptômes cliniques (Jomehzadeh et *al.*, 2019) et les résultats peuvent être rendus en 15 minutes (Fanjeaux.,2010). De plus, le prélèvement est facile car les antigènes solubles peuvent être détectés dans les urines du patient. La simplicité de la procédure est un autre avantage car les antigènes peuvent être détectés par la méthode immunoenzymatique (ELISA) (Ruf et *al.*, 1990) basé sur un anticorps polyclonal de lapin anti-LPS. cependant, cette méthode ne permet de diagnostiquer que *Legionella pneumophila* sérotype 1 (Fanjeaux., 2010) .

I.7.7.2.3 Polymérase Chain réaction

La méthode de PCR permet un diagnostic rapide, avec des résultats obtenus dans la même journée. Sa sensibilité est de 80 à 100 % et sa spécificité est proche de 100 %. La PCR peut être réalisée sur des prélèvements non respiratoires tels que l'urine et le sérum. Les gènes cibles les plus couramment utilisés sont les gènes codant pour les ARN ribosomiaux 5S et 16s dans les techniques spécifiques du genre *Legionella*, ainsi que le gène mip (macrophage infectivity potentiator) dans les techniques spécifiques de l'espèce *L. pneumophila* (Jamilloux et *al.*, 2012).

I.7.7.2.4 Sérologie

Cette méthode présente une contrainte majeure en termes de délais, qui est relativement long, et nécessite de confirmer le diagnostic par un second prélèvement. L'intervalle recommandé entre le premier prélèvement (au début des symptômes) et le second est d'environ trois à quatre semaines (Jamilloux et *al.*, 2012). Parmi les techniques sérologiques utilisées, l'immunofluorescence indirecte est fortement recommandée (Fields, Benson, and Besser 2002) et se révèle plus sensible que certains tests ELISA (Malan et *al.*, 2003). Elle permet la détection d'anticorps principalement dirigés contre le LPS (lipopolysaccharide) de la membrane externe des légionelles (Simon.,2019).

Aucune de ces techniques n'est idéale pour la diagnostique, les avantages et les inconvénients de chaque technique sont répertoriés dans le tableau. Cependant, seule une combinaison de ces techniques permet de réaliser à la fois un diagnostic clinique et de déterminer l'espèce (Fanjeaux.,2010). (**Tableau I.4**)

Tableau I.4 : tests utilisés dans le diagnostic de la maladie du légionnaire et leurs caractéristiques. (Fanjeaux., 2010)

Tests	Délais de résultats	Échantillons	Sensibilité	Spécificité	Avantages	Inconvénients
Antigénurie	< 1 h	Urines	70-90 %	99,00%	Rapide, précoce, positif même sous traitement Cible l'espèce la plus impliquée dans pathologie	Ne permet la détection que de <i>Legionella pneumophila</i> séro groupe 1, concentration des urines avant analyse est recommandée
Culture	3 à 10 j	Respiratoires	60,00%	100,00%	Détection de toutes les espèces et sérogroupes, intérêt en épidémiologie	Milieux de culture spéciaux, négativation rapide, peu sensible si traitement
IFD	< 4 h	Respiratoires	25,00%	65,00%	Rapide	Réactions croisées
Sérologie	3 à 10 semaines	Sérum	80,00%	97-99 %	Intérêt en épidémiologie	Diagnostic tardif voire rétrospectif car développement de la réponse immunitaire non immédiat
Amplification génique	< 4 h	Respiratoires Sérum Urines	80-100 % 30-50 % 46-86 %	> 90 % > 90 % > 90 %	Détecte toutes les espèces	Technique non encore incluse dans les critères de définition des cas

I.7.8 Contrôle des légionelles

Il est obligatoire de surveiller la présence des légionelles dans les réseaux d'eau chaude sanitaire (ECS) et les tours aéroréfrigérantes (TAR), et de contrôler régulièrement les installations au niveau des points d'usage. La surveillance de la légionelle est basée sur la mesure de la température de l'eau, le contrôle de la teneur en éléments nutritifs tels que le fer et le Carbone organique ainsi que le suivi de la présence de micro-organisme tels que les amibes.(Epalle., 2015)

I.7.9 Gestion du risque *Legionella*

La prévention du risque lié aux légionelles est exclusivement centrée sur son élimination des environnements hydriques. Une fois que les taux de *Legionella* sont très élevés et dépasse 10^3 UFC/L, une désinfection de l'eau est essentielle afin de lutter contre les épidémies de légionnelle (Exner et al., 2011). Il existe un nombre important de techniques de désinfection regroupées en trois catégories : les méthodes physiques (ultraviolets et membranes de filtration), les méthodes thermiques (chaleur et pasteurisation) et les méthodes chimiques (agent oxydant, non oxydant et ions métalliques) (Orsi et al., 2014). Le traitement thermique et la chloration sont les

deux méthodes les plus largement utilisées à ce jour pour la désinfection de l'eau (Fanjeaux.,2010).
(Tableau I.5)

I.7.9.1 Traitement thermique

Le traitement consiste à élever la température de l'eau à 70°C pendant 30 minutes, dans tout le réseau. Cette augmentation de la température a pour effet d'éliminer t les légionelles, qui ne peuvent survivre à cette température élevée. Afin d'éviter tout risque de brûlures, la décontamination est généralement réalisée pendant la nuit, après avoir informé les usagers. Bien que cette méthode soit simple, rapide et facile à mettre en place, elle présente des limitations en termes d'efficacité et durée d'action, car l'eau peut être à nouveau colonisée par la suite (Allegra et *al.*, 2011).

I.7.9.2 Traitement physique

I.7.9.2.1 UV

Les radiations UV ont un effet bactéricide en altérant l'ADN et en provoquant des dimères de thymine, ce qui ralentit la réplication bactérienne (Franzin, Cabodi, and Fantino., 2002). Cette méthode implique l'exposition de l'eau à traiter aux rayons UV émis par des lampes à vapeur de mercure. Cependant, son utilisation est limitée car elle s'avère efficace uniquement sur les réseaux à faible débit et peu chargé en éléments en suspension.

En effet, ces particules peuvent masquer les bactéries et les protéger des rayons UV. De plus, les UV n'ont aucun effet sur les biofilms qui se trouvent éloignés des points de traitement (Moore et Shelton., 2014).

I.7.9.2.2 Membrane de filtration

La technique implique l'installation du filtre au point d'utilisation pour capturer les particules présentes dans l'eau. Dans le cas spécifique des légionelles, on parle de microfiltration (Salvatorelli et *al.*, 2005). Cette dernière consiste à éradiquer les bactéries en installant des filtres d'une porosité inférieure à 0,45µm à la sortie de chaque lieu de passage d'eau (les robinets, douches, les sanitaires...). Cette méthode est simple, facile à mettre en place et largement utilisée dans les zones à haut risque. Cependant, son principal inconvénient réside dans la nécessité d'une surveillance constante des filtres afin d'éviter tout colmatage. Pour assurer une efficacité optimale, il est nécessaire de remplacer les filtres tous les 7 jours, ce qui entraîne des coûts d'utilisation non négligeables (Epalle.,2015).

I.7.9.3 Traitement chimique

I.7.9.3.1 La chloration

La chloration est une méthode largement utilisée dans le monde pour la désinfection de l'eau. Le chlore libre est le principal composé chimique utilisé dans ce processus, et il se présente sous trois formes équilibrées dans l'eau : l'acide hypochloreux (HOCl), l'ion hypochlorite (ClO⁻) et l'ion chlorure (Cl⁻) (Kim et *al.*, 2002). L'activité bactéricide de chloration est principalement attribuée à l'acide hypochloreux, dont la concentration dépend du pH et de la température de l'eau. A une température ambiante, l'acide hypochloreux prédomine pour des pH inférieurs à 7,5.

L'utilisation du chlore libre pour la désinfection des réseaux d'eau peut être réalisée de deux manières : un traitement continu ou un traitement de choc. Selon la littérature, un traitement continu au chlore nécessite une concentration de chlore entre 2 et 6 mg/L (*CSTB (2012)*). Le traitement de choc, implique l'injection d'une solution contenant entre 15 et 100 mg/l de chlore libre. Après un temps de contact variable en fonction de la concentration utilisée, le réseau est ensuite vidangé pour éliminer le chlore résiduel.

La prévention de risque lié aux légionelles est exclusivement centrée sur son élimination des environnements hydriques. Ces différents moyens de lutter contre la bactérie présentent chacun leurs avantages et leurs inconvénients. Une association de ces traitements est souvent la meilleure alternative à la désinfection des réseaux colonisés par la légionelle.

Tableau I.5 : principale méthodes de traitement des circuits d'eau face aux contaminations à *Legionella*, leurs avantages et inconvénients.(Kim et al., 2002).

Méthodes de traitement	Avantages	Inconvénients
Choc thermique	- Pas d'équipements spéciaux (intérêt et cas d'épidémies)	- Procédure longue et difficile à mettre en œuvre (70°C/30 minutes dans tout le réseau), - Risque de brûlure, - Recolonisation bactérienne inéluctable (pas de caractère rémanent).
Ultraviolets	- Facile à installer, - Pas de réactivité avec l'eau et la plomberie.	- Faible turbidité et épaisseur de lame d'eau, - Efficacité insuffisamment démontrée, - Pas d'activité résiduelle, - Coût à l'usage
Hyperchloration	- Activité désinfectante résiduelle efficace à long terme si traitement continu.	- Corrosion et dommages sur la plomberie, - Recolonisation bactérienne inéluctable, - Formation d'organo-chlorés, - Sensible aux pH et à la température.
Dioxyde de chlore	- Activité rémanente importante (1 mg/L en continu), - Moins corrosif que les hypochlorites car utilisé à des concentrations plus faibles, - Ne donne pas de goût à l'eau, - Bon pouvoir pénétrant des biofilms, - Pas de formation d'organo-chlorés.	- Mise en place difficile, - Coûteux, - Générateurs de chlorite et chlorate.
Ozone	- oxydant très efficace, - Pas de corrosion,	- Pas d'effet rémanent, - Formation de sous-produits d'oxydation (aldéhydes, peroxyde d'hydrogène, acide formique, ...) - Process onéreux.
Ionisation par cuivre-argent	- Efficace, - Peu coûteux, - Installation et maintenance acceptables, - Pas d'interférence avec l'eau à haute température, le chlore et les U.V.	- Encrassement des électrodes, - Risque de coloration de l'eau, - Non autorisée en France.

Matériel et méthodes

II.1 Matériel

II.1.1 Matériel biologique

Le matériel biologique étudié comprend les éléments suivants :

- Sérum albumine bovine (BSA)
- Carapaces de crevette de l'espèce *Aristeus antennatus*
- Carapaces de crevette de l'espèce *Parapenaeus longirostris*
- Germe pathogène : *Legionella pneumophila*

II.1.2 Matériel non biologique

Les divers instruments et produits employés sont répertoriés dans le tableau qui suit :

Tableau II.6 : Matériel et réactifs utilisés

Appareils	Réactifs
- Agitateur BIOBLOCK SCIENTIFIC. - Agitateur magnétique à 6 postes. (LABINCO BV). - Agitateur magnétique chauffant (Fisherbrand™ LAB-MIX 35). - Agitateur magnétique chauffant (IKA® WERKA RCT basic). - Appareil BRUKER RMN. - Bacs en inox. - Balance de précision (KERN ABS 220-4N). - Balance de précision (SHIMADZU AUW220D UNI BLOC). - Barreaux magnétiques. - Bec bunsen. - Bêchers (25 ml, 50 ml, 100 ml, 2 L). - Boîtes de Pétri. - Cartouches en cellulose. - Ciseaux. - Congélateur. - Creusets en porcelaine. - Cuves de spectrophotométrie en quartz. - Densimètre. - Dispositif de Soxhlet (huberminichiller). Etuve (MEMMERT UM 600).	- Acétone. - Acide Acétique. - Acide chloridrique (HCL) - BCYE (Legionella GrowthSupplement). - Eau de javel. - Eau distillée. - Eau du robinet. - Ether éthylique - GVPC (Legionella SelectiveSupplement). - Hydroxyde de Sodium.

<ul style="list-style-type: none">- Epprouvettes graduées (50 ml, 500 ml).- Fioles jaugés (1 L).- Flacons ambrés (250 ml).- Flacons en verre stériles (500 ml).- Flacons stériles à usage unique en PET 1 L.- Incubateur (NEW BRUNSWICK SCIENTIFIC G24).- Membranes de filtration (0.45μm)- Micropipettes et cônes stériles. (100-1000 μl).- Mixeur.- Mortier.- Papier absorbant.- Papier pH.- Passoire.- Pincettes métalliques.- Pipettes Pasteur.- Pissettes.- Portoirs.- Rampe de filtration à 6 postes.- Seringues 5 ml.- Spatules.- Spectromètre FTIR- Spectrophotomètre UV-Visible (Shimadzu UV 1800).- Tamis (200 μm).- Thermomètres.- Tubes à essais stériles	
---	--

II.2 Méthodes

II.2.1 Collecte et prétraitement de la matière première

II.2.1.1 Collecte des carapaces de crevettes

La récolte de la carapace fraîche des crevettes a été réalisée le mois de janvier de l'année en cours au niveau de la poissonnerie Annabi de Tébessa et de la pêcherie d'Alger.

II.2.1.2Prétraitement de l'échantillon

Afin d'exploiter efficacement l'échantillon récolté dans le cadre de cette étude il a été primordial de le traiter d'une façon à le rendre propre, exempt d'impuretés et prêt pour les traitements chimiques, tout en respectant les étapes suivantes : (Figure II.8)

II.2.1.2.1 Nettoyage

L'objectif est d'éliminer toute trace de chair restante après la décortication et d'éviter que des résidus ou des micro-organismes ne s'y fixent. Cette étape de nettoyage implique un premier rinçage à l'eau du robinet, suivi d'un autre rinçage à l'eau distillée.

II.2.1.2.2 Séchage

Les carapaces nettoyées ont été exposées à l'air libre sur un papier cuisson pendant 72 heures afin d'éliminer la totalité de l'eau de rinçage. Un séchage à l'étuve à 37°C a été également réalisé.

II.2.1.2.3 Broyage et tamisage

Les carapaces séchées ont été broyées puis tamisées pour une granulométrie très fine et un rendement d'extraction plus élevé.

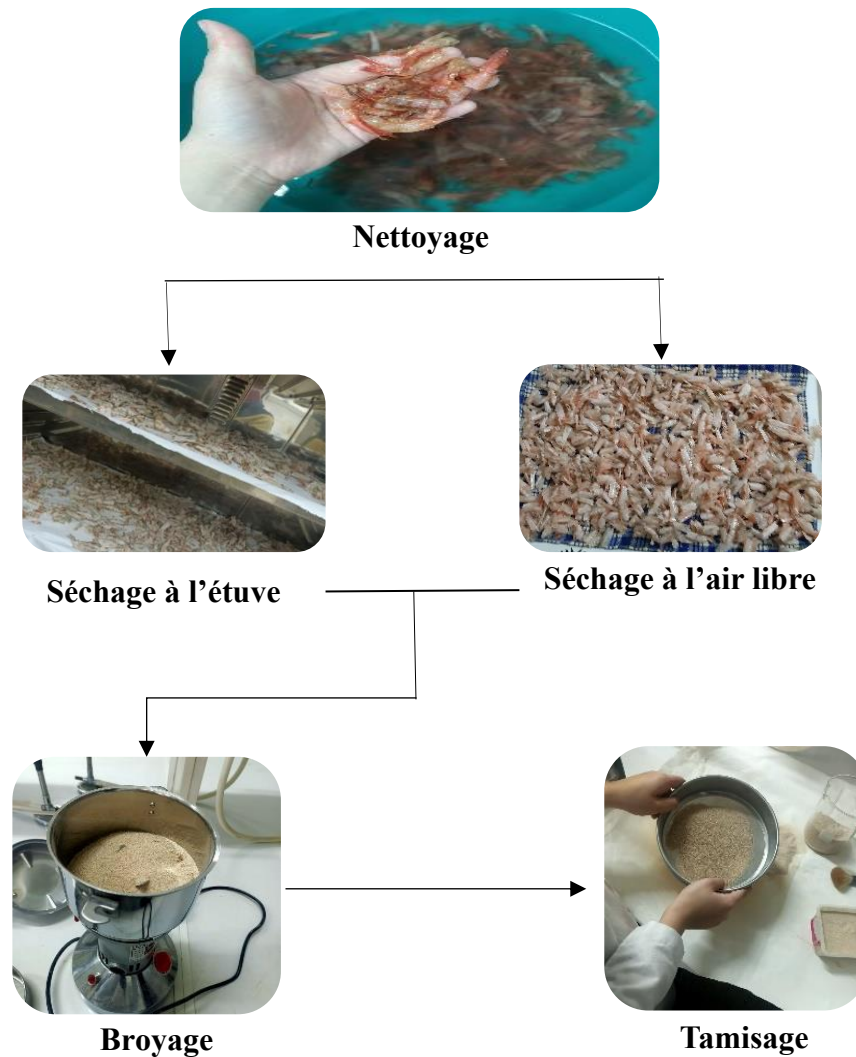


Figure II.9 : Diagramme de prétraitement des carapaces de crevettes.

II.2.2 Détermination de la composition biochimique globale de la poudre de carapaces de crevettes

II.2.2.1 Détermination de la teneur en eau

La teneur en eau d'un échantillon est déterminée en calculant le rapport entre le poids de l'eau dans l'échantillon et le poids de la matière sèche restante après que toute l'eau initialement présente a été éliminée. Cela a été réalisé en séchant l'échantillon jusqu'à ce que son poids devienne constant (AOAC, 1980). (Figure II.10)

- **Mode opératoire**

1. Peser le creuset vide.

2. Ajouter 2g d'échantillon dans le creuset et noter le poids total.
3. Placer le creuset sans son couvercle dans l'étuve à 105°C pour permettre à l'eau de s'évaporer.
4. Après 24 heures, retirer le creuset de l'étuve et le laisser refroidir dans un dessiccateur.
5. Effectuer une dernière pesée pour déterminer le poids final

Le taux l'humidité est calculé selon la formule suivante :

$$H\% = \frac{M1 - M0}{M1 - M2} * 100$$

Avec les variables suivantes :

- M0 : Le poids initial du creuset vide
- M1 : Le poids du creuset avec l'échantillon avant étuvage à 105°C
- M2 : Le poids du creuset avec l'échantillon après étuvage à 105°C



Etuve à 105°C pendant 24h



Balance à précision 10⁻⁵

Figure II.10: détermination de la teneur en eau.

II.2.2.2 Détermination de la teneur totale en matières minérales

La teneur en matières minérales a été évaluée en incinérant la poudre de carapaces de crevettes dans un four à moufle à une température de 600°C pendant 4 heures, conformément à la méthode AOAC (1999). Cette procédure permet de brûler la matière organique et de laisser que les cendres. (Figures II.11)

II.2.2.2.1 Mode opératoire

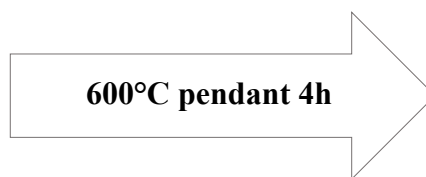
1. Utilisez une balance à précision 10^{-5} pour peser un creuset vide.
2. Ajoutez 2g de poudre de crevettes dans le creuset vide.
3. Placez le creuset dans un four à moufle chauffé à 600°C pendant une durée de 4 heures.
4. Après la phase d'incinération, retirez le creuset et placez-le dans un dessiccateur pour le refroidir sans que les cendres ne se réhumidifient.
5. Enfin, pesez à nouveau le creuset avec l'échantillon une fois revenu à température ambiante.

La teneur en minéraux est déterminée selon la formule suivante :

$$C\% = \frac{m_2 - M_0}{M_1 - M_0} \times 100$$

Avec :

- C (%) : La teneur totale en minéraux exprimée en pourcentage ;
- M_0 : La masse du creuset vide en g.
- M_1 : La masse du creuset et de l'échantillon avant incinération en g.
- M_2 : La masse en g du creuset avec les cendres.



Four à moufle

Figure II.11: Détermination de la teneur en matière minérale.

II.2.2.3 Détermination de la teneur en lipides totaux

La méthode de Soxhlet est une technique de mesure gravimétrique utilisée pour la quantification des lipides dans des produits solides déshydratés. Cette méthode implique la pesée

du produit sec qui est ensuite placé dans une cartouche de cellulose et inséré dans une chambre d'extraction. L'extraction se fait en continu avec de l'éther éthylique à une température d'ébullition de 35°C, ce qui permet de dissoudre progressivement les graisses. Le solvant chargé en lipides retourne dans le ballon par des écoulements successifs causés par un effet de siphon dans le coude latéral. Étant donné que seul le solvant peut s'évaporer à nouveau, les graisses s'accumulent dans le ballon jusqu'à ce que l'extraction soit complète. Après l'extraction, l'éther est évaporé et la matière lipidique est pesée pour obtenir la quantité de lipides présente dans l'échantillon (Sahoré et Abouattier., 2016). (Figure II.12).

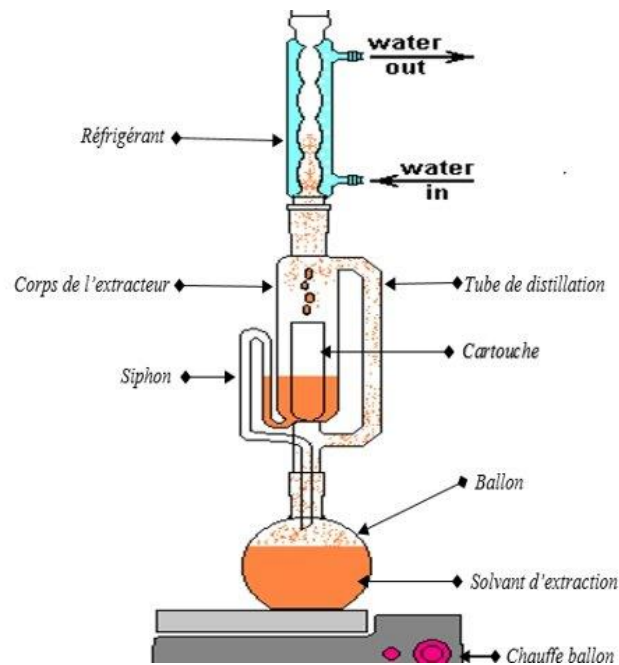


Figure II.12 : Principe de la méthode de Soxhlet

• Mode opératoire

Voici les étapes à suivre pour cette opération :

1. Mettez en marche le réfrigérant à 2°C.
2. Utilisez une balance pour peser le ballon vide avant l'extraction.
3. Dans une cartouche de cellulose, pesez 2g de poudre de carapaces de crevettes.
4. Placez la cartouche dans la chambre d'extraction.
5. Prévoyez un blanc qui ne contiendra que le solvant, afin de confirmer l'absence de composés lipidiques dans celui-ci.
6. Ajoutez 160 ml d'éther éthylique.
7. Préchauffez le ballon à 100°C pour porter le solvant à ébullition, puis abaissez la température à 60°C et laissez reposer pendant 4 heures.

8. Une fois le temps écoulé, placez le ballon dans un rota-vapeur à 60°C pour concentrer les lipides obtenus et éliminer le solvant.
9. Enfin, pesez à nouveau le ballon une fois que l'extraction est terminée.

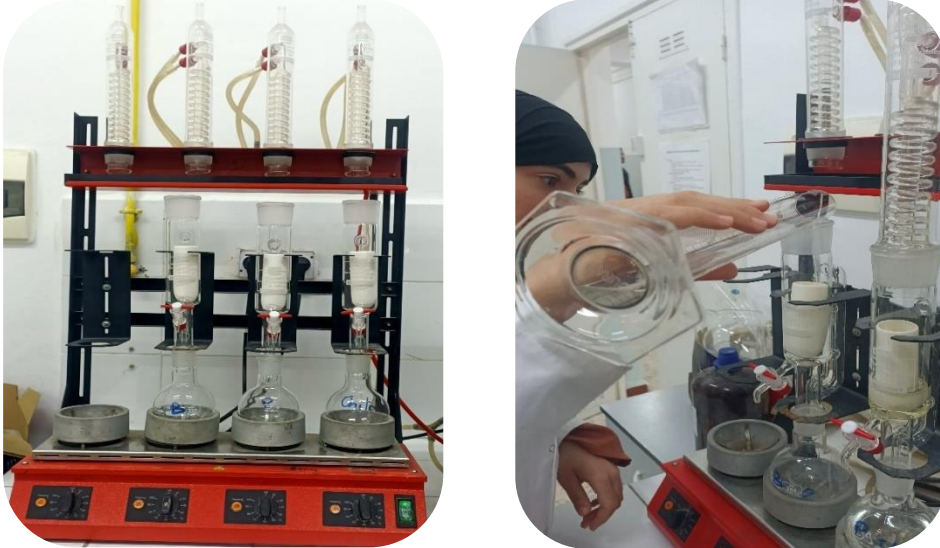


Figure II.13 : Détermination de la teneur en lipides totaux

II.2.2.4 Détermination de la teneur en protéines totales

La méthode de dosage colorimétrique de Biuret repose sur la réaction entre les liaisons peptidiques des protéines et les ions cuivriques provenant du sulfate de cuivre utilisé comme réactif. Cette réaction se produit en milieu alcalin et forme un complexe coloré bleu-violet dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de protéines présentes dans l'échantillon. (Figures II.14 et II.15).

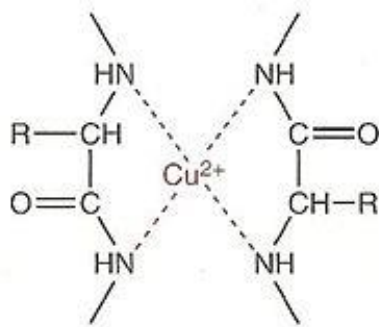


Figure II.14: Complexe entre le cuivre alcalin et les liaisons peptidiques

- Mode opératoire

1. Préparer une série de tubes numérotés
2. Préparer une solution mère de BSA à 1%.
3. Dissoudre la poudre de carapaces de crevettes dans un volume d'eau distillée déterminé.

4. Ajouter des concentrations croissantes de la solution de BSA dans les tubes de la courbe étalon.
5. Compléter avec de l'eau distillée jusqu'à obtenir un volume final constant et bien mélanger.
6. Ajouter 1 ml de solution de NaOH.
7. Ajouter un volume déterminé de réactif de Biuret. Incuber à température ambiante pendant 30 à 90 minutes.
8. Prélever une partie de la solution contenue dans les tubes à essais pour remplir la cuve photo spectrométrique aux trois quarts.
9. Mesurer l'absorbance à la longueur d'onde de 545 nm



Figure II.15 : Gamme étalon BSA pour dosage des protéines totales (méthode au biuret modifiée)

II.2.3 Extraction de la chitine et production du chitosane

II.3.1.1 Dépigmentation et délipidation

Pour éliminer les pigments et les lipides contenus dans la poudre de carapaces, une dépigmentation et une délipidation ont été effectuées : **(Figure II.16)**.



1- La poudre de carapaces a été immergée dans un solvant organique dans un bécher d'un litre pendant 24 heures à température ambiante



2- Après macération, la solution a été filtrée



3- Le solvant a été évaporé en plaçant la poudre dans une étuve à 37°C.

Figure II.16 : Etapes de Dépigmentation et délipidation

II.3.1.2 Déminéralisation

Afin d'éliminer les minéraux présents dans la poudre de carapaces de crevettes, un processus de déminéralisation est entrepris. La poudre est transférée dans un bécher de 2 L. l'acide chlorhydrique est ensuite ajouté progressivement au mélange, et chauffé. Le contenu est ensuite filtré et lavé à plusieurs reprises avec de l'eau distillée jusqu'à ce que le pH de la poudre soit neutre.

(Figure II.17)

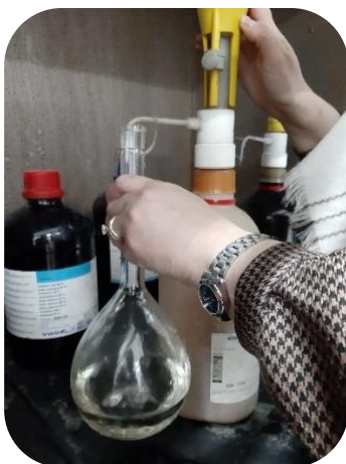


Figure II.17 : Etapes de Déminéralisation

II.3.1.3 Déprotéinisation et désacétylation

La poudre déminéralisée est traitée avec une base forte à haute température sous agitation douce. Ensuite, la poudre est filtrée et lavée à l'eau distillée jusqu'à ce que le pH soit neutre. (Figure II.18)



Figure II.18 : Dispositif de Déprotéinisation et désacétylation

II.2.4 Caractérisation du chitosane

II.2.4.1 Rendement massique du chitosane

Le rendement massique est déterminé en utilisant la formule suivante, qui prend en compte le poids du chitosane obtenu après extraction par rapport au poids initial de la poudre de carapace traitée (LE ROUX., 2012) :

$$Y_m (\%) = \frac{M_2}{M_1} * 100$$

Avec :

- M1 : le poids de la poudre initiale (g).
- M2 : le poids du chitosane obtenue (g).

II.2.4.2 Test de solubilité

Pour solubiliser le chitosane en poudre, il est nécessaire de dissoudre 0.1g de celui-ci dans 10 ml d'une solution d'acide acétique (1%). Cette dissolution doit être effectuée sous agitation continue pendant une nuit à température ambiante jusqu'à ce que le chitosane soit complètement dissous (FERNANDEZ-KIM, 2004).

II.2.4.3 Détermination du degré de déminéralisation :

La formule suivante (RAO et al. 2000) est utilisée pour calculer le degré de déminéralisation :

$$DM (\%) = \frac{A_0M_0 - A_rM_r}{A_0M_0} * 100$$

Dans cette formule, les variables M_0 et M_r correspondent respectivement aux masses initiale et résiduelle du produit hydrolysé. Les variables A_0 et A_r correspondent quant à elles aux pourcentages de cendres présents dans le produit initial et résiduel. Ces pourcentages sont évalués à l'aide de la méthode AOAC (1990).

II.2.4.4 Détermination du degré de déprotéinisation

Le degré de déprotéinisation (DP) a été évalué en utilisant l'équation suivante (Rao, Muñoz, et Stevens, 2000) :

$$DP (\%) = \times \frac{P_0M_0 - P_rM_r}{P_0M_0} 100$$

Dans cette équation, M_0 et M_r représentent respectivement la masse initiale et résiduelle du produit. P_0 et P_r correspondent aux taux de protéine initiale et résiduelle du produit.

II.2.4.5 Détermination du degré de désacétylation du chitosane produit

Le degré de désacétylation du chitosane produit a été déterminé par spectroscopie FTIR et par RMN 1H.

II.2.4.5.1 FTIR

La méthode la plus simple et la plus rapide pour calculer le DDA est la spectroscopie IR proposée par Khan et coll. Le DDA des échantillons ont été déterminé en utilisant la formule ci-dessous :

Avec DA : Degré d'acétylation.,

$$DA = 100 - DDA$$

Où :

- **A1320** : l'absorbance au nombre d'onde 1320 cm^{-1} correspondant à l'amide III ;
- **A1420** : l'absorbance au nombre d'onde 1420 cm^{-1} correspondant à la déformation symétrique de CH 3 et CH2 ;

Les spectres FTIR ont été pris dans les conditions suivantes. Une quantité de 0.05 mg de chitosane en poudre a été mélangée à 100 mg de KBr et pressée sous forme de 21 pastilles sous une pression de 1 Gpa. Pour chaque test de 50 à 100 balayages (scan) ont été collectés à la résolution de 2 cm⁻¹ dans le domaine des longueurs d'onde de 400 à 4000 cm⁻¹.

II.2.4.5.2 RMN

La mesure du degré de désacétylation par RMN du proton (RMN H1) se fait par la méthode proposée par (KASAAI, 2010).

L'échantillon à analyser est préparé par dissolution de 5 mg de chitosane dans 0.5 ml d'une solution à 2% en masse de DCl dans D2O. Les spectres RMN sont enregistrés sur un spectromètre BRUKER Avance 250 MHz à 70°C.

Le DDA est évalué à partir de l'intégration des intensités des pics correspondant au groupement méthyle de la N-acétylglucosamide et de celle des protons H2 à H6 selon l'équation ci-dessous (HIRAI et al,1991).

$$DDA = \left[\frac{1 - \left(\frac{1}{3} \times I_{HAc}\right)}{\left(\frac{1}{6} \times I(H2-H6)\right)} \right] \times 100$$

Avec :

- I_{HAc} est l'intensité intégrale de du pic correspondant aux protons du groupement acétyle.
- I (H2-H6) est la somme des intensités intégrées des protons H2, H3, H4, H5 et H6

II.2.4.6 Viscosité

L'analyse de la viscosité a été effectuée au niveau du laboratoire du SARL Casbah. La viscosité dynamique de la solution du chitosane est déterminée à l'aide d'un viscosimètre numérique. Le Cs a été mis en solution dans de l'acide acétique à (1%), et une gamme de solutions de chitosane à différentes concentration a été préparée.

Les solutions sont passées à l'analyse dans un viscosimètre numériques de la série NDJ. Le principe est de placer le liquide à étudier entre deux cylindres coaxiaux (l'un mobile, l'autre fixe). Lorsque le cylindre mobile est entraîné en rotation, il se crée un gradient de vitesses à

l'intérieur du fluide, proportionnel à la vitesse de rotation. Le fluide exerce alors une contrainte sur le cylindre mobile en lui imposant une certaine résistance, directement mesurée par un capteur. (MEYER, 2018).

II.2.4.7 Poids moléculaire

La connaissance de la viscosité permet d'accéder à la masse moléculaire du chitosane en utilisant de l'équation Mark Houwink (RINAUDO et DOMARD, 1998) :

La masse molaire moyenne est déterminée par la mesure de la viscosité

$$[\eta] = K * M^a$$

Avec :

- $[\eta]$: viscosité intrinsèque extrapolée pour une concentration nulle en soluté (dL/g)
- $[M]$: poids moléculaire du soluté polymère supposé isomoléculaire (g/mol).
- K et a : constantes caractéristiques du couple polymère-solvant à une température donnée

Dans notre cas, pour le solvant utilisé CH₃COOH à 1% et une température de 20°C : $a = 0.93$ (sans dimension) ; $k=1.81 \cdot 10^{-3}(\text{dl.g}^{-1})$.

II.2.6 Traitement des Décontamination d'une eau contaminée par *Legionella pneumophila*

II.2.6.1 Revivification de la souche de *Legionella pneumophila*

II.2.6.1.1 Préparation de milieu de culture

Avant de procéder à la réactivation de la souche, il est crucial de préparer le milieu de culture spécifique. Cette préparation milieu de base pour les légionelles, suivi de l'ajout du supplément de croissance (BCYE) qui contient de la cystéine, essentielle à la croissance des légionelles, ainsi que du supplément sélectif (GVPC) contenant des antibiotiques qui inhiberont la croissance des autres germes. Une fois les composants soigneusement mélangés, le milieu de culture est réparti dans des boîtes de Pétri prêtes à êtreensemencées et utilisées pour les expérimentations ultérieures. (**Figure II.19**)



Figure II.19 : Préparation du milieu de culture de *L. pneumophila*

- **Mode opératoire**

1. Désinfecter la surface de travail avec de l'eau de javel pour stériliser la paillasse.
2. Allumer le bec Bunsen pour travailler dans un périmètre de stérilité.
3. Placer 4 flacons de 250 ml contenant le milieu BCYE dans un bain-marie pour les faire fondre.
4. Préparer 2 flacons stériles en verre d'une capacité de 500 ml.
5. Prévoir 5 flacons de "supplément de croissance Legionella" et un seul de "supplément sélectif Legionella", puis verser respectivement 10 ml d'eau distillée dans chacun.
6. Transférer deux flacons de 250 ml de milieu BCYE dans chaque flacon stérile de 500 ml. Ajouter le supplément de croissance et le supplément sélectif. Compléter les flacons avec du milieu BCYE jusqu'à la jauge de remplissage.
7. Fermer hermétiquement les flacons et mélanger soigneusement pour assurer un mélange homogène.
8. Couler le milieu dans les boîtes de Pétri. Avant de les fermer, flamber les boîtes pour éliminer les bulles d'air.
9. Laisser le milieu se solidifier dans les boîtes.

II.2.6.1.2 Revivification de la souche

(Figure II.20)

1. Procéder à la décongélation d'un tube de conservation contenant une suspension préalablement inoculée avec *Legionella pneumophila* ATCC 33152.
2. Utiliser un vortex pour homogénéiser la suspension.
3. Prélever une goutte de la suspension à l'aide d'une pipette Pasteur stérile. et ensemercer la gélose GVPC.
4. Incuber les boîtes à une température de $35\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ pendant une durée de 10 jours.

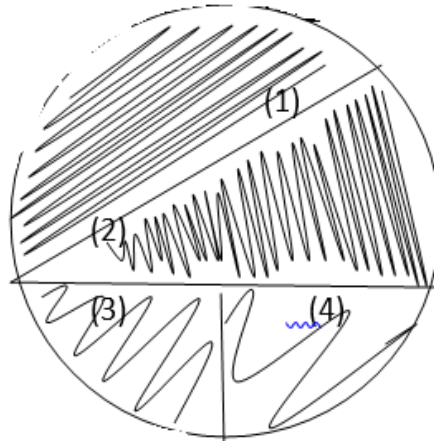


Figure II.20: Technique d'ensemencement

II.2.6.2 Elaboration des billes de chitosane humides

(Figure II.21)

1. Pour élaborer les billes de Cs, la poudre de Cs a été dissoute dans une solution d'acide acétique à 1 %. Le mélange a été agité jusqu'à obtenir un gel visqueux.
2. Ensuite, le gel a été versé goutte à goutte à l'aide d'une seringue de 2,5 ml dans une solution basique. Le mélange a été laissé se stabiliser dans l'obscurité pendant une nuit.
3. Les billes obtenues ont été filtrées et rincées avec de l'eau distillée.

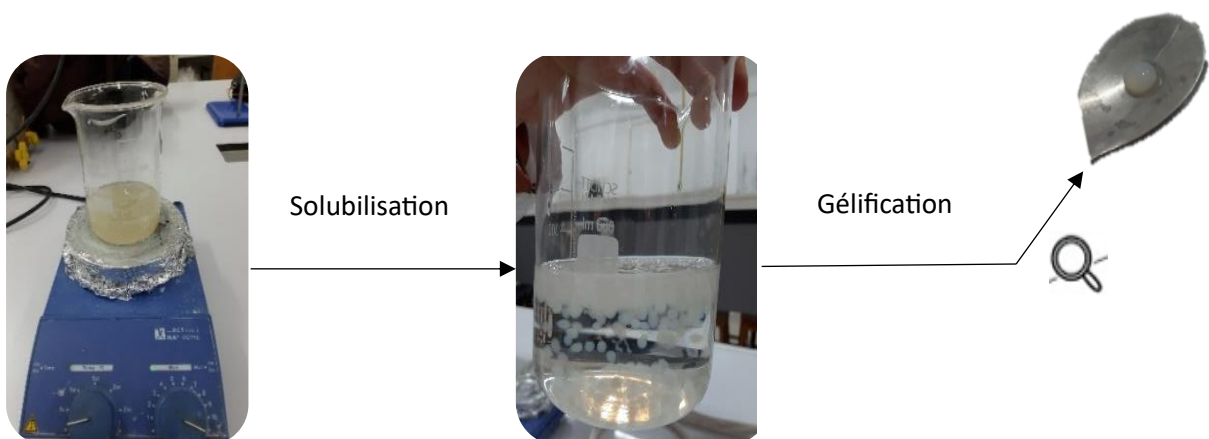


Figure II.21: Elaboration des billes de chitosane humides

II.2.6.3 Caractérisation des billes de chitosane

II.2.6.3.1 Diamètres moyens des billes

La mesure des diamètres des différentes billes de chitosane a été effectuée à l'aide d'un instrument de pied à coulisse sur un échantillon représentatif de billes.

II.2.6.3.2 Morphologie des billes par microscopie électronique à balayage MEB

Les analyses de la morphologie et de la structure de la surface des billes de chitosane ont été réalisées à l'aide du microscope électronique à balayage de marque. Cette partie de caractérisation a été faite au niveau du CRAPC de Bou Ismaïl.

II.2.6.3 Décontamination aux billes de chitosane à l'abri de la lumière

II.2.6.3.1 Mode opératoire

1. Contaminer l'eau distillée stérile avec une suspension bactérienne de la souche de réf *L. pneumophila* ATCC33152 jusqu'à obtenir une densité optique de 0.1McFarland.
2. Ajouter en quantité égale les billes de Cs dans chacun des trois flacons stériles
3. Verser 500 ml de l'eau contaminée dans chacun des trois flacons
4. Soumettre les flacons à une agitation magnétique continue pendant 5 heures (**Figure.22**)
5. Analyser les 500 ml restants (sans traitement) afin de déterminer la quantité initiale de *Legionella pneumophila* présente dans l'eau contaminée.

La densité optique de l'eau contaminée avant désinfection a été mesurée à l'aide d'un densitomètre, ainsi que celle d'un témoin du même échantillon laissé sur la paillasse pendant toute la durée de l'expérience à température ambiante sans désinfection, afin de s'assurer que la charge bactérienne sans désinfection n'a pas diminué au cours de l'expérience.

L'expérience a été menée au Laboratoire de Bactériologie des Aliments des Eaux et de l'Environnement de l'Institut Pasteur d'Algérie (IPA) en triplicat durant trois jours.



Figure II.22: Désinfection aux billes de chitosane des eaux contaminées par *L. pneumophila*

II.2.6.4 Décontamination aux billes de chitosane- UV solaires

II.2.6.4.1 Mode opératoire

Afin de comparer l'efficacité des billes de chitosane avec et sans soleil, on a effectué une série d'expériences en triplicat :

1. Contaminer l'eau distillée stérile avec une suspension bactérienne de la souche de réf *L. pneumophila* ATCC33152 jusqu'à obtenir une densité optique de 0.1McFarland.
2. 3 flacons stériles en verre ont été supplémentés chacun en quantité égale de billes de chitosane humides.
3. Les trois flacons ont été remplis chacun avec 500 ml d'eau contaminée.
4. Les flacons ont ensuite été placés dans un endroit présentant une forte intensité lumineuse et soumis à une agitation magnétique continue pendant une durée de temps déterminée.

(Figure II.23)



Figure II.23 : Désinfection aux billes de chitosane UV- Solaire des eaux contaminées par *L. pneumophila*

II.2.7 Analyse microbiologique des eaux décontaminées

L'objectif de cette analyse est d'évaluer l'efficacité du traitement.

Les échantillons d'eau avant et après traitement ont tous été analysés selon la norme AFNOR NF T90-431. Méthode utilisant la filtration sur membrane, elle nous a permis de déterminer le niveau de réduction de *L. pneumophila* dans l'eau après traitement.

Présentation du dispositif de filtration : **(Figures II.24 et II.25)**

L'appareil de filtration sur membrane est un équipement qui utilise une cartouche filtrante avec une membrane poreuse stérile pour séparer les particules solides et les microorganismes d'un liquide, comme l'eau. La membrane agit comme une barrière physique en retenant les particules plus grandes que ses pores, tandis que le liquide purifié traverse la membrane pour être collecté. Les membranes de filtration peuvent avoir différentes tailles de pores, permettant de cibler spécifiquement les particules à retenir. Cela rend l'appareil de filtration sur membrane adapté pour éliminer divers contaminants, y compris des microorganismes tels que *L. pneumophila*.

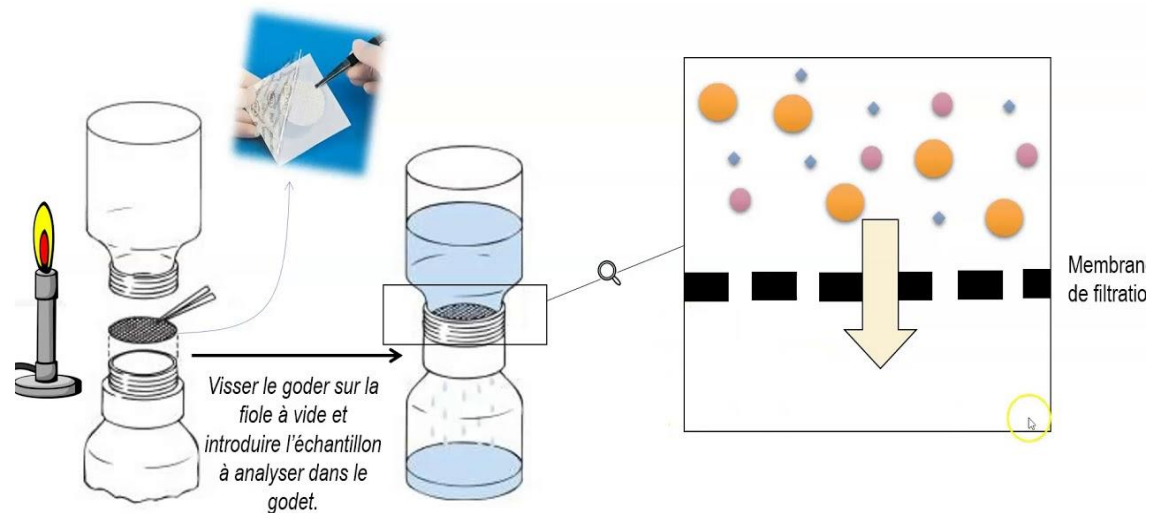


Figure II.24: principe de la filtration sur membrane

II.2.6.5.1 Mode opératoire

- Connecter les différents composants de l'appareil de filtration.
- Flamber la surface supérieure (plaque poreuse) de la rampe pour la stériliser.
- Placer correctement un entonnoir stérile (flambé ou stérilisé) sur la base des filtres.
- Verser un volume d'eau distillée pour refroidir le dispositif.
- Positionner une membrane stérile de porosité de $0,45 \mu\text{m}$, en plaçant le côté quadrillé vers le haut, sur le disque poreux. Utiliser une pince stérile en saisissant uniquement le bord extérieur de la membrane.
- Transférer un volume de l'échantillon bien mélangé dans l'entonnoir après avoir retiré les billes.
- Ouvrir le robinet et appliquer le vide. Lorsque la membrane semble sèche, refermer le robinet.
- Retirer l'entonnoir en utilisant la même pince stérile, puis transférer la membrane dans un tube en suivant les instructions de la norme AFNOR pour l'ensemencement.



Figure II.25 : dispositif de filtration sur membrane

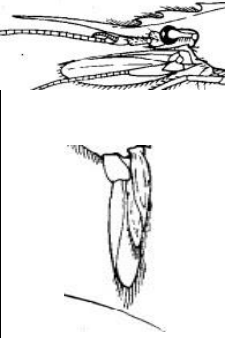





RESULTATS ET DISCUSSION

III.1 Identification de l'espèce

Aristeus antennatus et *Parapenaeus longirostris* sont deux espèces de crevettes bien distinctes, chacune avec ses propres caractéristiques morpho-anatomiques (Fisher., 1987).

- *Aristeus antennatus* se caractérise par sa taille pouvant atteindre 30 centimètres et sa couleur rouge à rose. Elle possède deux paires d'antennes très longues, une carapace solide et translucide, et un corps fuselé. La tête d'*Aristeus antennatus* est reconnaissable par ses yeux relativement petits et ses antennes exceptionnellement longues. Le telson, situé à l'extrémité de l'abdomen, est également une caractéristique distinctive.
- *Parapenaeus longirostris*, quant à elle, atteint une taille maximale de 17 centimètres et présente une coloration rouge orangé. Ses antennes comprennent également deux paires de longues antennes, tandis que sa carapace est solide et légèrement translucide. Sa tête se caractérise par des yeux relativement petits. Le telson, situé à l'extrémité de l'abdomen, est une autre caractéristique de cette espèce. Ces distinctions anatomiques aident à différencier ces deux crevettes dans les habitats marins où elles évoluent (**Tableau III.7**).

Tableau III.7 : Critères distinctifs pour l'identification des deux espèces de crevettes étudiées

Espèce	Critères	Selon la fiche de FAO (Fisher., 1987)	Espèces de la présente étude
<i>Aristeus antennatus</i> (Risso, 1816)	<p>Rostre : armé de trois dents sur le bord dorsal.</p> <p>Le telson : long et très étroit, comprimé latéralement, se termine par une pointe aigue</p>		 
<i>Parapenaeus longirostris</i> (Lucas, 1846)	<p>Le rostre : bien développé et armé de dents, il est légèrement recourbé vers le haut, et dépasse légèrement le pédoncule antennaire, son bord dorsal avec 8 dents environ dont la postérieure est épigastrique et nettement séparée des autres</p> <p>Le telson : long et très étroit, comprimé latéralement, se termine par une pointe aigue.</p>		 

III.2 Composition biochimique globale des coproduits de crevettes étudiées

La matière première utilisée pour cette étude est le mélange de l'exosquelette (carapace) de deux espèces de crevettes pêchées au niveau du littoral algérien (*A. antennatus* et *P. longirostris*). La composition biochimique des coproduits issus de ces crevettes a été déterminée et exprimée par rapport à la matière sèche (MS). Les résultats sont présentés dans (**le tableau III.8**) et dans la (**figure III.26**) ci-dessous.

Tableau III.8 : Composition biochimique globale des carapaces de crevettes des côtes algériennes

<i>Taux (%)</i>	<i>Présente étude</i>	<i>(Khiat et herguema 2022)</i>	<i>(Guesmi& Hennous, 2022)</i>	<i>(Haddab &Kortbi, 2020)</i>	<i>(Kefil, 2020)</i>	<i>(Oulhiz, 2018)</i>
<i>Teneur en eau</i>	8.18	10.11	11.57	14.61	10.5	10.09±0.09
<i>Teneur en minéraux</i>	30.15	49.5	39.88	37.49	32.6	28.09±0.52
<i>Teneur en protéines</i>	7.6	7.13	8.3	28.96	24.26	30.63±2.01
<i>Teneur en lipides</i>	8.68	4.82	11.04	6.99	8.7	3.22±02.04

Au regard des résultats obtenus, les coproduits contiennent 8.18% d'humidité, 30.15% de minéraux, 7.6% de protéines, et 8.68% de lipides.

III.2.1 Teneur en eau

Dans le cadre de cette étude, nous avons utilisé deux méthodes de séchage des échantillons : le séchage à température ambiante à l'air libre et le séchage à l'étuve à une température constante de 37°C. la teneur finale en eau de la matière sèche est estimée à 8.18%. Cette valeur est inférieure à celle obtenu par **khiat** et **Herguema** (2022) qui ont trouvé un taux de 10.11% et à celle obtenue par **Guesmi** et **Hennous** 11.57% ; quant à **Haddab** et **Kortbi** (2020), elles ont enregistré des taux plus élevés de l'ordre de 14.61%.

Cela indique que l'échantillon est bien séché et ces résultats confirment que ces deux méthodes sont efficaces pour sécher les échantillons de manière adéquate, garantissant ainsi une conservation appropriée et des analyses précises de leur composition biochimique globale.(sainclivier., 1983).

III.2.2 Teneur en minéraux totaux

La teneur totale en matières minérales est de 30.15%. Celle-ci est légèrement inférieure à celle obtenue par **Kefil** (2020) qui a trouvé 32.6%, Par contre, elle est nettement plus basse que celle obtenue par **Khiat et Herguema** (2022) qui ont rapporté des taux de l'ordre 49.5%.

Les différences dans le taux de minéraux dans les crevettes peuvent être due à des facteurs tels que l'espèce, le sexe, l'habitat, la saison et l'alimentation. (Sainclivier., 1983)

III.2.3 Teneur en protéines totales

La teneur en protéines de l'échantillon analysé est de 7.6%. Ce taux se situe entre les valeurs rapportées par **Khiat et Herguema (2022) (7.13%)** et **Guesmi et Hennous (2021) (8.11%)**. Cependant, elle est considérablement inférieure à ceux rapportés par **Haddab et Kortbi (2020) (28.96%)**, **Kefil (2020) (24.26%)** et **OULHIS (2018)** avec une teneur de **(30.63%)**.

Ce résultat est dû probablement à un décorticage minutieux et un nettoyage très poussé de la matière première. En effet, toute la chair collée à la carapace et au telson a été extraite afin de faciliter et d'optimiser l'étape de déprotéinisation. De plus, les conditions environnementales telles que la qualité de l'eau, la température, la salinité et l'alimentation des crevettes peuvent avoir un impact sur leur composition nutritionnelle, y compris la teneur en protéines. De même, les échantillons de crevettes utilisés dans différentes études peuvent provenir de différentes espèces, de différentes sources géographiques ou de différents stades de développement, ce qui ajoute une autre source de variabilité dans la teneur en protéines mesurée (sainclivier, 1983).

III.2.4 Teneur en lipides totaux

Les taux en en lipides totaux sont de l'ordre de 8,68%. Ce résultat est similaire à celui trouvé par **Khafil** (2018), qui a rapporté une teneur de 8,7%. En revanche, ces taux différents considérablement (double) de ceux enregistrés par **Khiat et Herguema (2022) (4,82%)** ainsi que par **Oulhiz** en 2018 (3,22%).

Ces différences peuvent être attribuées à divers facteurs tels que les méthodes d'extractions utilisées, les sources des échantillons et les conditions environnementales. Cependant il est important de noter que ce pourcentage ne représente pas exclusivement les lipides, mais également les pigments présents dans l'échantillon. La méthode d'extraction utilisée dans le cadre de ce travail, est la méthode de Soxhlet à l'aide d'un solvant organique éther-éthylique qui a dissous à la fois les pigments et les lipides, (sainclivier, 1983)

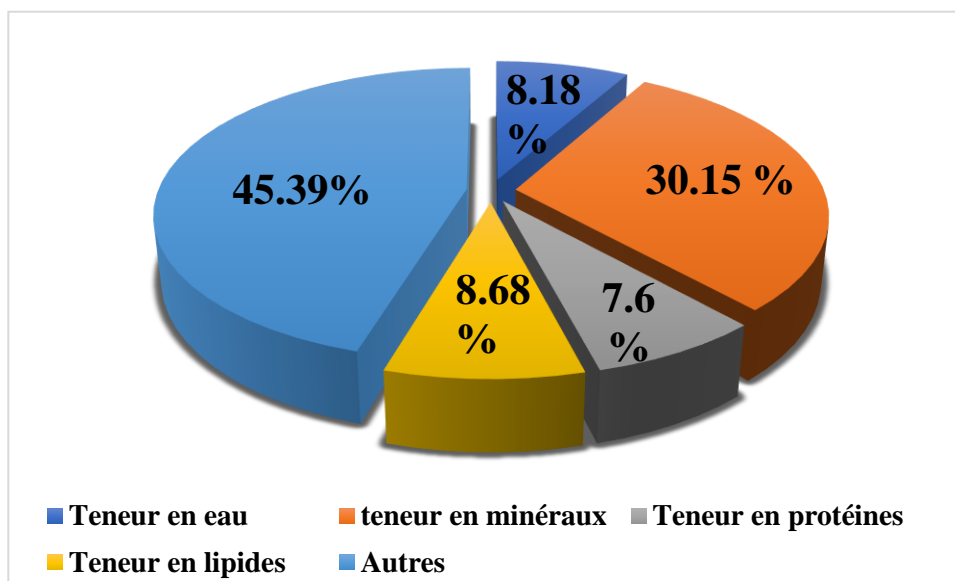


Figure III.26 : Composition biochimique globale des coproduits de crevettes (exprimée en pourcentage)

III.3 Caractérisation du chitosane produit

III.3.1 Rendement massique

Le chitosane obtenu après le traitement des coproduits de crevette présente un rendement massique de 14.7%, Cette valeur dépasse largement les rendements rapportés dans les études précédentes (Tableau III.9).

Tableau III.9 : Rendement massique de chitosane extrait des carapaces de crevettes

	Présente étude	(Khat & Herguema 2022)	(Guesmi & Hennous, 2021)	(Haddab & Kortbi, 2020)	(Kefil, 2020)	(Oulhiz, 2018)
Rendement massique (%)	14.5	11	11.13	9.6	6.84	9.02

Ce résultat démontre que le protocole adopté a permis de réduire les pertes occasionnées par les lavages successifs entre les étapes de déprotéinisation et de déminéralisation.

En outre, la richesse exceptionnelle des carapaces de crevettes collectées en chitine contribue probablement au fort rendement en chitosane. De même, une poudre de crevette extrêmement fine a été utilisée, avec une taille inférieure à 200 μm ce qui facilite son extraction.

Par ailleurs, pendant le processus d'extraction, les lavages ont été effectués par décantation-pipetage, ce qui nous a permis de minimiser les pertes dues à la filtration et d'optimiser le rendement. Ces facteurs combinés ont joué un rôle déterminant dans l'obtention d'un rendement massique exceptionnellement élevé.

Selon Zou et *al.*, (2023), les rendements massiques varient en fonction de plusieurs facteurs telles que : la méthode d'extraction, l'espèce utilisée, les saisons et les conditions environnementales (zones de pêche).

III.3.2 Teste de solubilité

Le chitosane extrait des coproduits de crevettes a été solubilisé dans une solution d'acide acétique à 1%. Les résultats ont montré que le chitosane se dissout entièrement dans cette solution, présentant une apparence visqueuse et un aspect translucide (**Figure III.27**). Cette observation confirme que la désacétylation de la chitine a été réalisée avec succès, entraînant la transformation complète de la chitine en chitosane. Cette solubilité élevée dans l'acide acétique facilite également l'utilisation ultérieure du chitosane dans diverses applications, notamment la préparation des billes de chitosane.

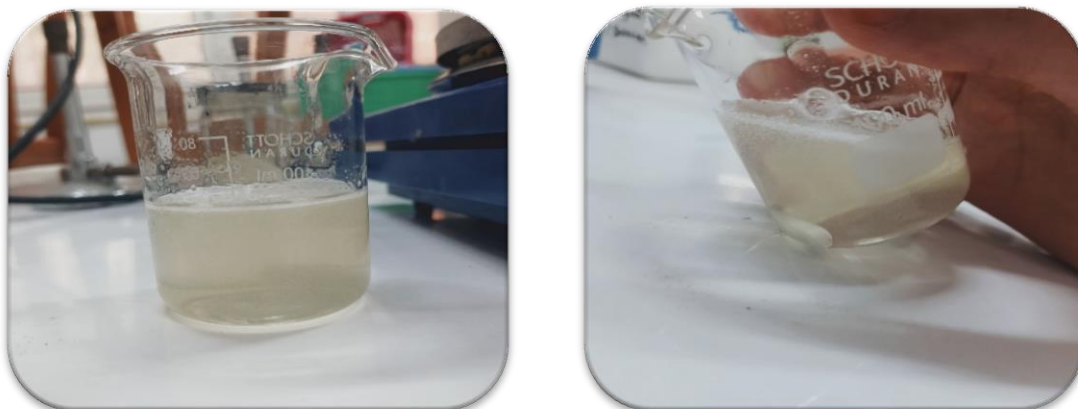


Figure III.27 : Solubilisation du chitosane produit dans une solution acide à 1%

III.3.3 Degré de déminéralisation et de déprotéinisation du chitosane extrait

Afin d'évaluer la quantité de protéines et de minéraux présente dans le chitosane extrait, des analyses ont été réalisées. Les résultats obtenus (**tableau III.10**) fourniront des informations précieuses sur la composition chimique et sur la pureté du chitosane extrait, ce qui permettra d'évaluer l'efficacité des traitements appliqués.

Tableau III.10 : Degré de déminéralisation et de déprotéinisation du chitosane produit

	Chitosane extrait
(DM%)	98,55%
(DP%)	99%

Le degré de déminéralisation du chitosane est de (98.55%), ce qui témoigne d'une élimination presque totale des matières minérales, malgré leur présence initiale en forte proportion dans la carapace des crevettes (30,15%). L'hydrolyse acide à haute température semble très efficace dans l'élimination de ces derniers.

En ce qui concerne le DP (degré de déprotéinisation), nous avons enregistré un pourcentage élevé de 99,99%, ce qui se rapproche de celui obtenu par **Haddab et Kortbi** (2020), qui est de 100%. Par ailleurs, ce taux est supérieur à celui révélé par **Guesmi et Hennous** (2021) (63,2%), indiquant ainsi une élimination presque totale des protéines après traitement à la chaleur et avec des bases fortes. Ces résultats démontrent l'efficacité remarquable de la méthode de déprotéinisation appliquée, permettant d'obtenir de chitosane pratiquement dépourvu de protéines.

III.3.4 Degré de désacétylation du chitosane produit

Le DDA a une influence sur toutes les propriétés physicochimiques (masse moléculaire, viscosité, solubilité ...etc.) du chitosane, et il peut être décisif quant aux applications dans lesquelles il est utilisé. Plusieurs techniques permettent de déterminer le DDA du chitosane, cependant, la spectroscopie IR et la résonance magnétique semblent les plus appropriées pour des caractérisations rapides.

III.3.4.1 FTIR

La spectroscopie FTIR a été effectuée dans une gamme de fréquences de 4000-500 cm^{-1} sur des pastilles de KBr contenant le chitosane produit. Les résultats de la caractérisation révèlent une série de pics d'absorption qui sont représentés dans la (**figure III.28**) ci-dessous :

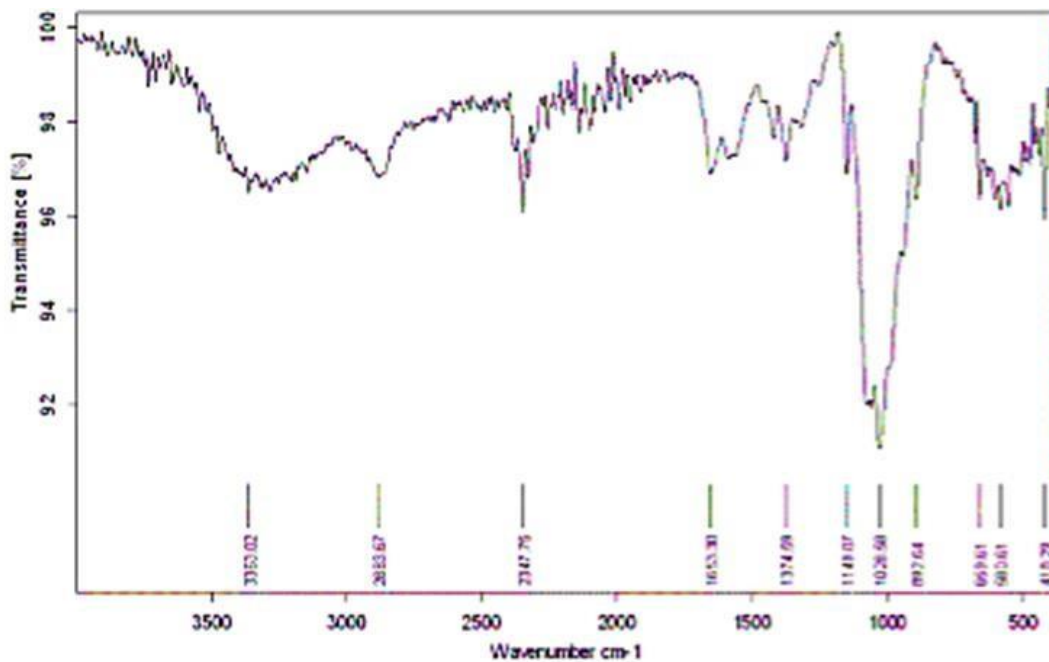


Figure III.28 : Spectre FTIR du chitosane extrait

Le spectre obtenu par FTIR a mis en évidence les bandes qui caractérisent le chitosane notamment :

- 3300 et 1155 cm^{-1} : larges bandes caractéristiques de liaisons (O-H)
- 2879, 2922 et 2888 cm^{-1} : larges bandes caractéristiques des liaisons (C-H),
- 1660 les liaisons C=O aux pics,
- 1646.58 cm^{-1} , bande caractéristique de la vibration des liaisons (NH_2)
- 1643, 1594 cm^{-1} , bandes caractéristiques de la vibration et de l'élongation des liaisons (N-H)
- 1024,36 cm^{-1} bande caractéristique de la vibration des liaisons C-O-C

D'après le spectre FTIR, le DDA du chitosane extrait à partir des co-produits de crevettes est de 96.4 %.

Selon **OULHIZ** (2018), un DDA élevé (>70%) indique que le chitosane est de bonne qualité.

III.3.4.2 RMN

En général, le spectre RMN ^1H du chitosane montre des pics allant de 0.5 à 5

ppm (chaînes aliphatiques). Le graphique ci-dessous (**Figure III.29**) révèle la présence des unités glucosamine et acétyl glucosamine qui diffèrent par les déplacements chimiques des protons liés aux carbones 1, 2 et 5. Les autres protons ont des déplacements chimiques identiques. À partir des spectres obtenus, le degré de désacétylation (DD) peut être déterminé en comparant l'intégralité du pic de résonance à 2 ppm environ, correspondant aux protons du CH₃ du groupe acétyl, par rapport aux protons H₂-H₆ du cycle glycosidique, situés entre 3 et 4,4 ppm (VO., 2013). Le degré de désacétylation (DD) du chitosane extrait par voie chimique est de 95.6 %.

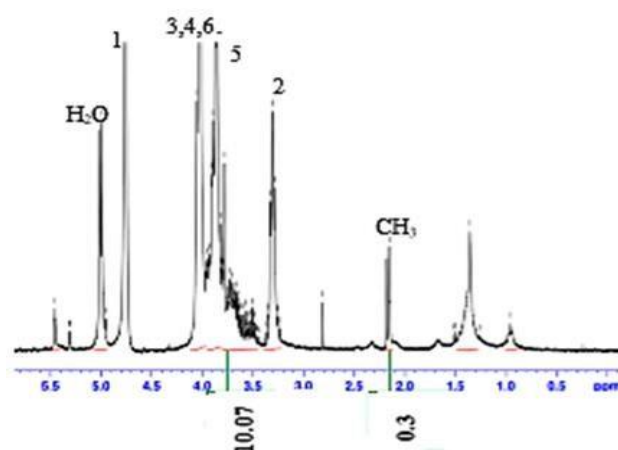


Figure III.29 : Spectre RMN 1H du chitosane extrait

Le spectre de l'extrait chitosane est similaire avec ce qui décrit dans la littérature mais avec de légers décalages dans les déplacements chimiques des atomes en partie par million (ppm). Cela est vraisemblablement dû à la différence dans la concentration de l'échantillon dissout dans l'eau lourde. Cette similarité confirme que la molécule extraite est du chitosane.

Les résultats obtenus dans la présente étude ainsi que ceux des travaux antérieurs sont consignés dans le **tableau III.11** ci-dessous.

Tableau III.11 : Degré de désacétylation du chitosane produit

DDA (%) Chitosane extrait	Présente étude	OULHIZ (2018)	Kefil (2020)	Haddab et Kortbi (2020)
Par FTIR	96.01 %	72,73 %	-	80,12%
Par RMN	95.6 %	-	94.01	-

Le DDA du chitosane produit est largement supérieur à ceux obtenus par Haddab et Kortbi (2020) (80,12%) et par Oulhiz (2018) sur la crevette rose *Parapenaeus longirostris*, en utilisant deux méthodes chimiques (65% et 72,73%). Ce résultat est assez proche de ce qui est rapporté par Kefil (2020) dont le DDA est de 94.01%, Cette différence peut être due à la concentration de NaOH utilisée pour la dé-acétylation et la déprotéinisation de la chitine.

Néanmoins, les valeurs de DDA du chitosane relevées par FTIR et RMN dans la présente étude, sont très proches, ce qui conforte les résultats obtenus et ce qui permet de conclure que le chitosane produit est de très bonne qualité.

III.3.5 La viscosité

La viscosité dynamique est une grandeur physique qui caractérise la résistance à l'écoulement laminaire d'un fluide incompressible. La viscosité dynamique, la viscosité cinématique ainsi que la masse volumique du chitosane produit sont reportés dans le tableau suivant. (**Tableau III.12**).

Tableau III.12 : Résultats des paramètres rhéologiques du chitosane produit

Paramètres	Taux
Viscosité dynamique. (mPa.s)	6,4041
Viscosité cinématique. (mm ² /s)	6,4037
RDV	---
Précision de la Viscosité	Précis
Taux de Cisaillement	664,4
Force de cisaillement	4,255
Masse Volumique	1,00006
Précision de la Masse Vol.	Ultraprécis
Masse volumique	1005,10
Densité spécifique	1,0061

La viscosité du chitosane dépend du DDA de ce polymère. Plus il est désacétylé, plus il y a de groupements amines libres, plus le chitosane est soluble et par voie de conséquence sa viscosité est plus importante (Kasaai., 2007).

III.3.6 Poids moléculaire

Le poids moléculaire du chitosane produit est de 223 kDas. Les masses molaires du chitosane et la répartition des motifs N-acétylés le long de la chaîne dépendent de la méthode de désacétylation utilisée. Le chitosane commercial a une masse molaire entre 100-500 kDa (Kasaai, 2007).

III.4 Caractérisation des billes de chitosane

III.4.1 Diamètres moyens des billes

Le diamètre moyen des taille des billes de chitosane a été obtenu à l'aide d'un instrument de pied à coulisse. Pour avoir des résultats précis, la mesure du diamètre a été effectuée une dizaine de billes humides et confronté à la mesure obtenue par le MEB. Les résultats obtenus pour les différentes billes sont reportés dans le tableau suivant.

Tableau III.13 : Diamètres des billes de chitosane (mm)

Numéro des billes de chitosane	Diamètres (mm)	Diamètre moyen des billes de chitosane (mm)
1	4	
2	3.5	
3	3	
4	3	
5	3.2	3.37± 0.4
6	3.5	
7	3	
8	4	
9	3	
10	3.5	

L'observation macroscopique montre clairement des billes humides d'aspect lisse, de forme complètement sphérique et un diamètre moyen de de 3.37 ± 0.4 mm. Ces résultats corroborent avec ceux observés au MEB, les tailles des billes variaient entre 3 et 4 mm (**Figure III.30**). (Allouche., 2021), a élaboré des billes à base composite à de chitosane- algue (*Ulva*) humides d'aspect lisse, de forme complètement sphérique et un diamètre moyen de 2 ± 2 mm.

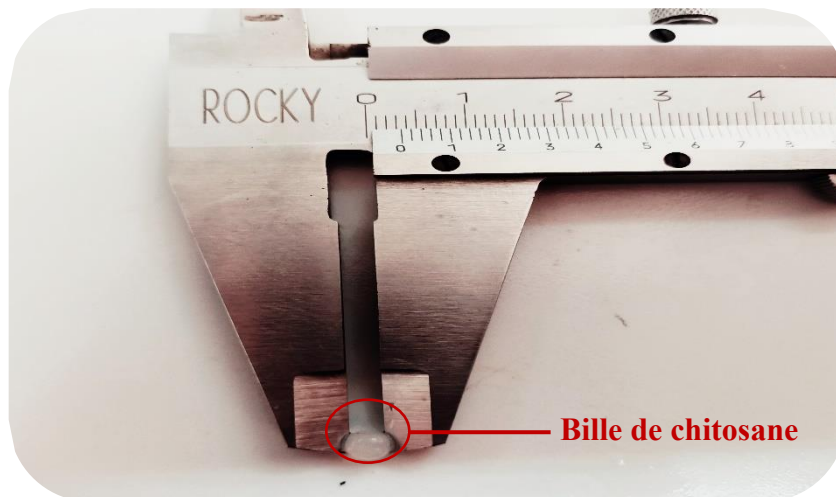


Figure III.30 : Exemple du diamètre d'une bille humide du chitosane déterminé à l'aide d'un pied à coulisse

III.4.2 Morphologie de la poudre de chitosane et des billes par microscopie électronique à balayage MEB

Les propriétés d'adsorption des matériaux poreux dépendent du nombre et de la nature des sites actifs mais sont également liées à la présence de pores. La détermination de la nature de la surface, du volume poreux et de la distribution du volume poreux des billes est donc essentielle pour caractériser les matériaux.

La (**figure III. 31**) représente les microstructures obtenues par microscopie électronique à balayage de la poudre de chitosane. Elle met en évidence la formation principalement des micropores de diamètre d'ordre de 1-2 μ m. On peut également remarquer la présence de quelques zones présentant une certaine rugosité. La micrographie révèle clairement la présence de deux microstructures l'une présente une surface lisse, tandis que l'autre présente une surface rugueuse.

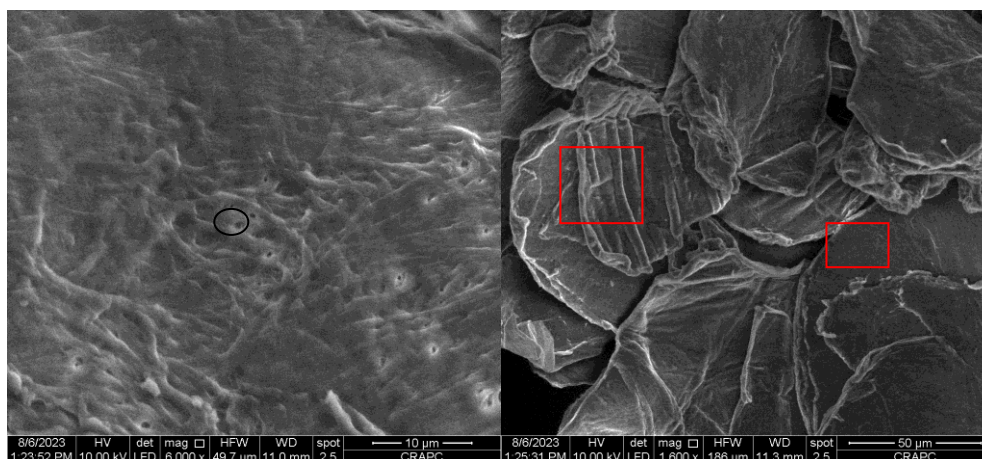


Figure III.31 : micrographie MEB de la poudre de chitosane

Les observations au microscope électronique à balayage des billes humides de chitosane montrent clairement qu'elles sont de forme sphérique sans fissures, de taille variant de 3 à 4 mm de diamètre (**Figure III.32**). La forme sphérique de ces dernières est due à l'extrusion (goutte à goutte à l'aide d'une seringue) de la solution de chitosane. Des observations similaires ont été rapportées par Merakchi-Alouache (2019) lors de la caractérisation des billes humides d'alginate.

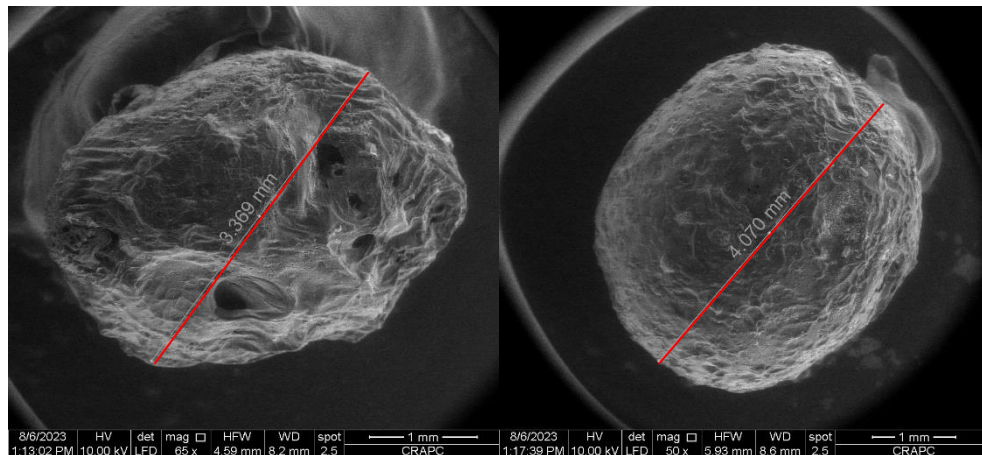


Figure III.32 : micrographie MEB des billes de chitosane

Les pores de la bille sont plus grands que trente microns (voir **figure III.33-a**), ce qui facilite l'adsorption des particules de Legionella ayant une taille comprise entre 10 et 20 μm . Au grossissement 3000 X, On constate la présence de quelques petits pores (quelques micromètres) qui ne sont pas claire à cette résolution du microscopique (voir **figure III.33-b**).

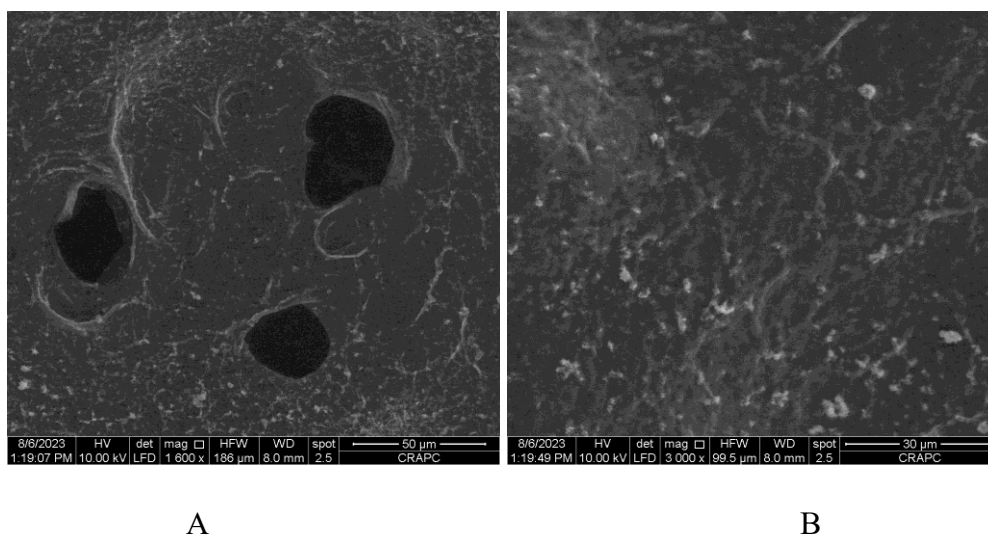


Figure III.33 : micrographie MEB de la surface des billes de chitosane

Les observations par MEB de l'état de surface obtenu de TFE sont représentées sur (la **figure III.34**). Il montre la formation de gros macro-pores (10-20 μ m) avec une rugosité importante de la surface. On peut également remarquer la présence de quelques particules à la surface.

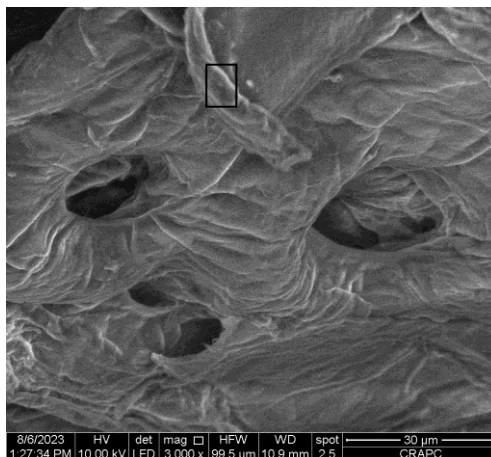


Figure III.34 : Micrographie TFE de l'état de surface des billes

Les billes de chitosane apparaissent poreuses à plusieurs échelles. A l'échelle du micromètre, l'observation par microscopie électronique à balayage montre une structure ouverte, très alvéolaire. Ces résultats corroborent avec ce qui est décrit dans la littérature (Gael Rocher., 2008), (Emane., 2018), (Allouche., 2021)

III.5 Efficacité de la désinfection aux billes de chitosane des eaux contaminées par *L. pneumophila*

Pour déterminer la quantité de chitosane nécessaire pour la désinfection d'une eau contaminée par *L. pneumophila*, des concentrations croissantes de poudre de chitosane ont été utilisées dans l'élaboration des billes. Après cinq heures de traitement d'une eau contaminée à 0,1 McF de *L. pneumophila* ATCC 33152 avec les billes de chitosane à l'abri de la lumière, les résultats obtenus sont présentés dans le **tableau III.14** et la **figure III.35** ci-dessous. Chaque expérience a été menée en triplicata.

Tableau III.14 : taux d'abattement de *L. pneumophila* dans les eaux traitées avec les différentes concentrations de billes de chitosane

Quantité Poudre de chitosane (g)	[Germes] (UFC/l) Avant traitement	[Germes] (UFC/l) Après traitement	Taux d'abattement (%)
0.06 g	7,6.10 ⁹	7.05 10 ⁹	7,23
0.33 g	7,6.10 ⁹	4,4.10 ⁹	42,10
0.4 g	4,8.10 ⁷	3,6.10 ²	99,99

Au regard des résultats, on constate que les billes de chitosane obtenues à partir de 0.06 g de poudre de chitosane par litre sont insuffisantes pour désinfecter l'eau contaminée puis qu'un taux d'élimination seulement de 7.23% a été obtenu.

Après 5 heures de traitement avec 0,33 g de chitosane, le taux d'abattement s'élève à 42,10 %, néanmoins il reste insuffisant et la charge bactérienne est supérieure aux normes AFNOR concernant la qualité des eaux potables (inférieure à 1000 UFC/l de *L. pneumophila*) (AFNORD.,2013).

Étant donné que la concentration de la solution mère ($7.6 \cdot 10^9$ UFC/l) est très élevée, dépassant nettement les risques éventuels d'une contamination des eaux par ce germe, nous avons optés pour des niveaux de contaminations des eaux plus bas ($4.8 \cdot 10^7$ UFC/l) mais toute en restant les scénarios de contamination probables.

Une concentration de 0,4 g/L de chitosane a permis un taux d'abattement de 99,99%, ce taux est extrêmement significatif en termes de désinfection des eaux. En effet, la charge finale est de 360 UFC/l, qui est nettement inférieure aux normes AFNOR. De ce fait, 0.4 g de chitosane /l a suffi à elle seule pour éliminer 99,99 % de charge initiale de *L. pneumophila*. (**Figure III.35**)

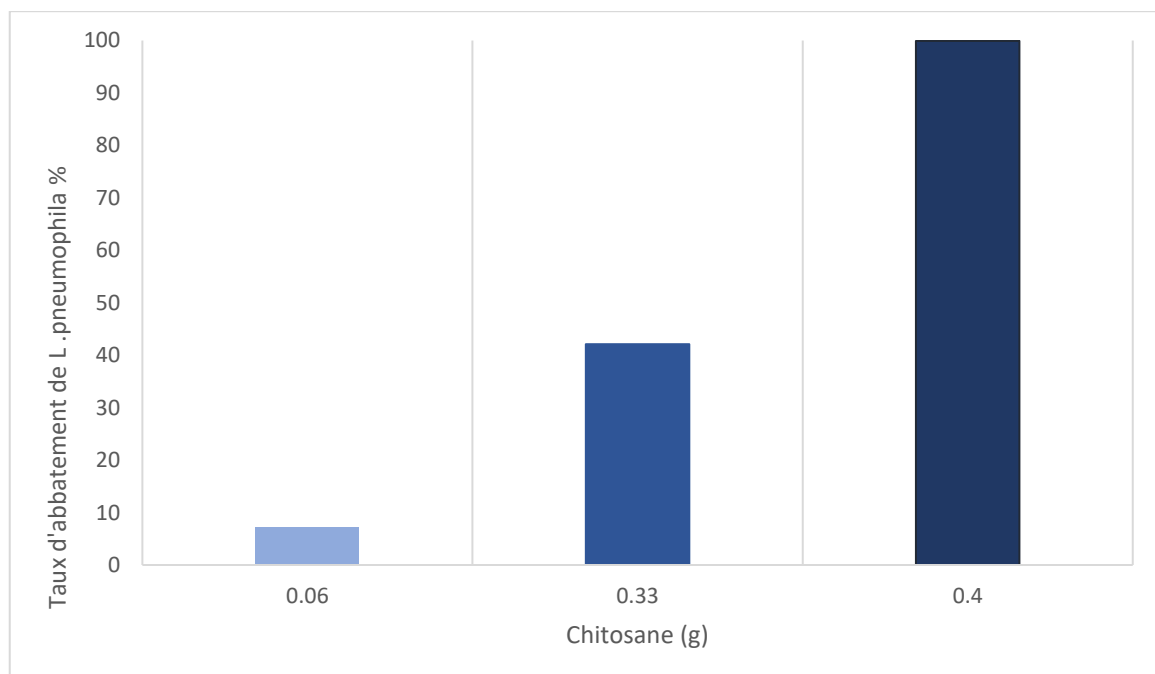


Figure III.35 : Taux d'abattement de *L. pneumophila* en fonction des différentes concentrations de chitosane

Après une série d'expériences de traitement des eaux contaminées par *Legionella pneumophila* à l'aide de billes de chitosane, on constate que l'augmentation de la quantité de chitosane a conduit à une amélioration significative des taux d'abattement. Cela peut être attribué aux propriétés antimicrobiennes et adsorbants du chitosane, ainsi qu'à une augmentation de la surface disponible pour l'adsorption des bactéries.

La raison derrière cette augmentation du taux d'abattement peut être attribuée à plusieurs facteurs. Tout d'abord, Lorsqu'elles entrent en contact avec les bactéries, les billes de chitosane déploient plusieurs processus pour les éliminer. Le chitosane, porteur d'une charge positive, attire les bactéries qui présentent généralement une charge négative en surface, favorisant leur adhésion. (Raafat et al., 2008). Cette différence de charge électrostatique favorise l'adhésion des bactéries aux billes de chitosane.

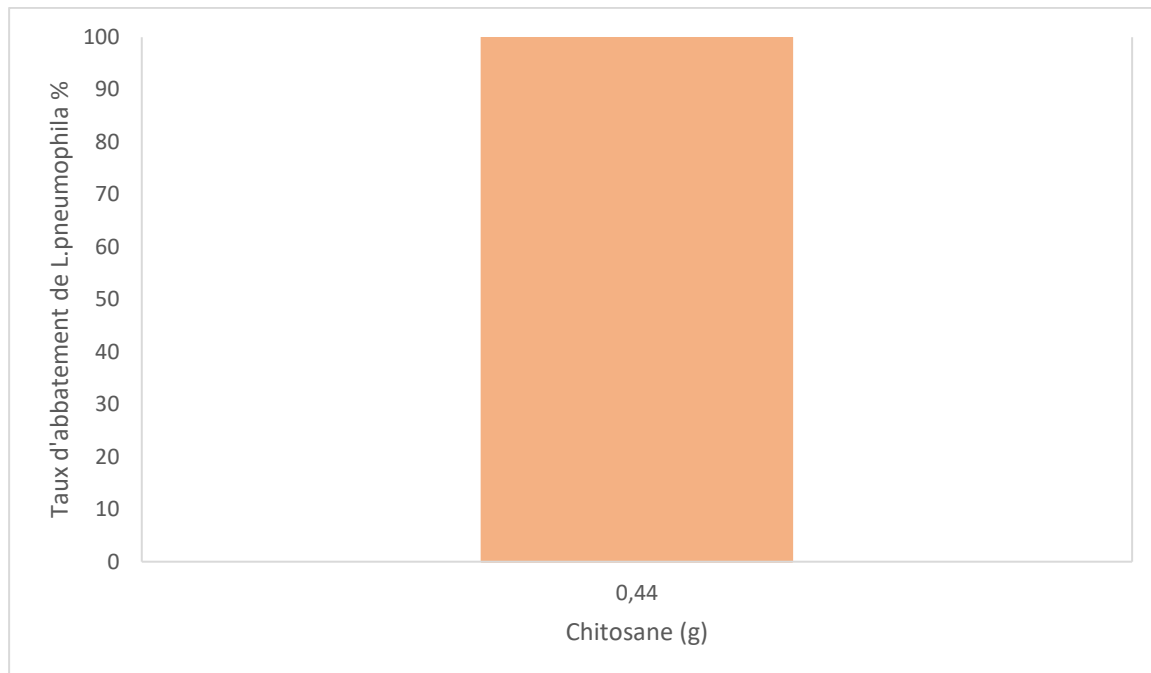
En interagissant avec les lipides de la membrane cellulaire, le chitosane provoquerait leur désorganisation et leur rupture, entraînant la fuite de composants cellulaires essentiels et la mort de la bactérie (Saito et al. 2019; Yilmaz Atay 2020; Raafat et al. 2008)

De plus, le chitosane perturbe le fonctionnement normal des enzymes et des protéines bactériennes. (Saito et al. 2019; No et al. 2002), inhibant notamment les enzymes impliquées dans la synthèse de la paroi cellulaire bactérienne et affaiblissant ainsi la structure de la bactérie. Enfin, le chitosane forme un film sur les surfaces où il est appliqué, créant une barrière physique qui empêche la colonisation bactérienne, limitant ainsi leur croissance et leur prolifération. (Popescu et al., 2022).

Pour améliorer le taux d'abattement, 0.44g de chitosane ont été utilisés et l'expérimentation a été menée en triplicat. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau suivant :

Tableau III.15 : Résultats du traitement avec 0,44g de chitosane

[Germes] (UFC/l) Avant traitement	[Germes] (UFC/l) Après traitement	Taux d'abattement (%)
7.10 ⁷	20	99,99



FigureIII.36 : Taux d'abatement de *L. pneumophila* avec 0.44g de chitosane

Ces résultats signifient que le traitement avec seulement 0.44g de chitosane a été extrêmement efficace pour éliminer les bactéries présentes dans les échantillons d'eau., sachant que la concentration initiale élevée (7×10^7 UFC/l) a été considérablement réduite à 20 UFC/l, ce qui représente une diminution drastique des bactéries présentes avec un taux d'abatement de 99.99%.

Le degré de désacétylation du chitosane produit varie de 95.6 % à 96.01 %. De ce fait le chitosane possède une teneur élevée en groupements amines. Selon Song et *al.* (2002), un chitosane, dont le degré de désacétylation est élevé, possède une très forte activité antimicrobienne, indiquant que les groupes fonctionnels pour l'inhibition de la croissance sont les groupes aminés cationiques.

Ces résultats sont prometteurs en termes de qualité de l'eau traitée, car une réduction aussi significative de la concentration bactérienne indique une amélioration de la salubrité de l'eau. Cela peut avoir un impact positif sur la santé publique en réduisant les risques de transmission de maladies d'origine hydrique telle la légionellose.

III.6 Détermination de la durée nécessaire pour la désinfection aux billes de chitosane-UV solaire d'une eau contaminée par *L. pneumophila*

Après avoir déterminé les conditions optimales pour la désinfection totale d'une eau contaminée par *L. pneumophila*, en utilisant des billes de chitosane-UV solaires, nous avons voulu déterminer quelle est la durée minimale d'exposition aux rayonnements solaires pour garantir un taux d'abatement de 100%. Pour se faire, une série de flacons d'eaux contaminées contenant des billes de chitosane (élaborées à partir de 0.44 g de chitosane) ont été exposés aux rayonnements solaires pendant différents laps de temps (2h, 3h, 4h). (Tableau III.16 et Figure III.37).

Tableau III.16 : Détermination de la durée minimale pour la désinfection aux billes de chitosane-UV solaires des eaux contaminées par Legionella.

Durée de traitement (H)	[Germes] (UFC/l) Avant traitement	[Germes] (UFC/l) Après traitement	Taux D'abatement (%)
2 H	$7 \cdot 10^7$	00	100
3 H	$7 \cdot 10^7$	00	100
4H	$7 \cdot 10^7$	00	100

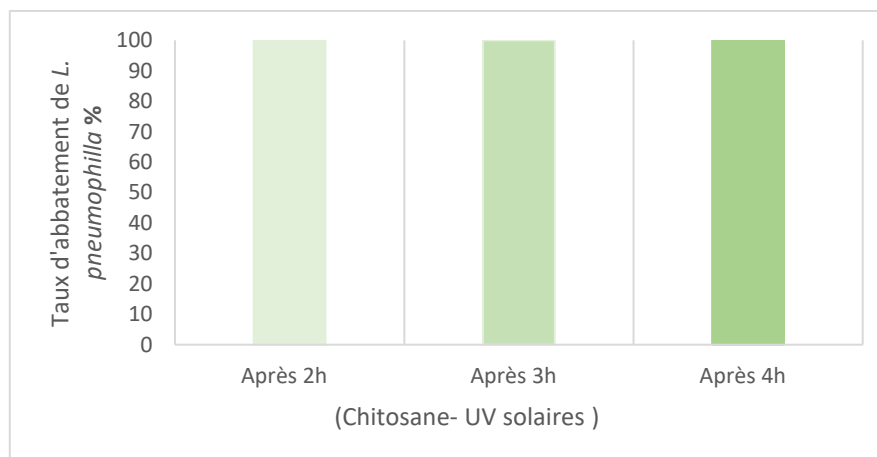


Figure III.37 : Taux d'abatement de *L. pneumophila* après traitement billes de chitosane-UV solaires en fonction du temps (2H, 3H et 4H)

Après avoir mené une série d'expériences de traitement avec des billes de chitosane-UV solaires en fonction du temps, il a été constaté que 2 heures d'exposition aux rayonnements solaires sont suffisantes pour une élimination complète des légionelles présentes initialement dans la solution.

Le pouvoir adsorbant du chitosane n'est plus à démontrer, d'ailleurs il est largement utilisé dans le traitement des eaux usées et des effluents des industries chimique. Seul ou en combinaison avec des composites tels que la bentonite, la zéolite CTS-ZMS, a permis l'adsorption et l'élimination des nitrates et des phosphates et des métaux lourds (Giannakas et Pissanou ,2018, Cui et *al.*, 2019, (Gao & Zhang., 2020)et (Giannakas & Pissanou., 2018; Trikkaliotis et *al.*, 2022). Ces résultats sont encourageants puisque ce procédé semble plus performant que l'épuration des eaux avec le système SODIS, qui nécessite de 6 à 12 heures selon l'intensité lumineuse. En outre, l'utilisation des billes offre l'avantage par rapport à la poudre de chitosane une plus grande surface d'adsorption tout en maintenant la transparence des eaux ce qui permet la pénétration et l'action des rayonnement solaires.

En effet, selon **Guesmi** et **Hennous** (2021), il a fallu 06 heures de traitement pour éliminer un maximum 99.96% des légionelles en utilisant une concentration de 1.5 g/L de poudre chitosane avec un DDA de 98.8%.

Dans la présente étude, une concentration de 0.44g/l de chitosane, équivalant à 20g de billes humides, a permis d'éliminer complètement 7.10^7 UFC/L de légionelles en seulement 2 heures de traitement. Les normes réglementaires ont été très largement respectées, démontrant ainsi l'efficacité du procédé. Ces résultats confirment l'avantage indéniable de cette méthode.

Conclusion

Conclusion

L'objectif principal de cette étude est la valorisation biotechnologique des coproduits de crevettes en produisant des billes de chitosane (biotechnologie bleue) et l'exploitation de ces dernières en combinaison avec les UV solaires dans le traitement d'une eau contaminée par *Legionella pneumophila* (biotechnologie jaune).

Pour se faire, une campagne de collecte des carapaces de crevettes pêchées au niveau des côtes algériennes a été entreprise. La détermination de la composition biochimique des carapaces d'*A. antenatus* et de *P. longirostris* a révélé que ces derniers sont très riches en polysaccharides, en minéraux et à moindre mesure en lipides et en protéines.

Le rendement massique du chitosane produit est de 14.5%. La caractérisation du chitosane par FTIR et RMN a montré que celui-ci est d'excellente qualité (avec un DDA de 96,01%, un DM de 98,55% et un DP de 99%). Il est parfaitement soluble dans les solutions légèrement acides. Son PM, de 223 kDa, est idéal pour le traitement des eaux.

Les observations au microscope électronique à balayage des billes humides de chitosane montrent clairement qu'elles sont de forme sphérique sans fissures, de taille variant de 3 à 4 mm de diamètre. Les pores de la bille sont plus grands que trente microns, ce qui a vraisemblablement faciliter l'adsorption des particules de *Legionella* dont la taille est comprise entre 2 et 20 μm .

L'utilisation des billes de chitosane humides (élaborées à partir de 0.44 g de poudre de chitosane) a été extrêmement efficace pour éliminer les légionnelles dans les échantillons d'eau, sachant que la concentration initiale de 7×10^7 UFC/l a été considérablement réduite à 20 UFC/l après cinq heures de traitement, ce qui représente une diminution drastique des bactéries avec un taux d'abattement de 99.99%.

Le traitement des eaux contaminées avec le système hybride billes chitosane -UV solaires a permis une désinfection totale des eaux. La charge microbienne de 7×10^7 UFC/L a été complètement réduite à zéro, ce qui correspond à un traitement de stérilisation. Ces résultats sont d'autant plus intéressants puisque deux heures de traitement ont été suffisants pour l'irradiation de ce germe.

A la lumière des résultats obtenus, il est possible de conclure que la valorisation biotechnologique des coproduits de crevettes et l'utilisation des UV solaires dans le domaine de la décontamination des eaux méritent une attention particulière. Elles représentent des solutions

alternatives intéressante qui s'inscrivent parfaitement dans le cadre du développement durable et de l'économie circulaire. A plus long terme, pour approfondir et enrichir cette étude, plusieurs pistes se révèlent prometteuses :

- Evaluer l'efficacité des méthodes de décontamination à base de chitosane pour différentes souches bactériennes pathogènes présentes dans l'eau.
- Optimiser les conditions de production du chitosane à partir des coproduits de crevettes afin d'obtenir un rendement maximal.
- Etudier l'impact de la taille et de la forme des billes de chitosane sur leur capacité d'adsorption des contaminants microbiens.
- Approfondir les recherches sur le pouvoir d'adsorption du chitosane dans le traitement des eaux contaminées et des eaux usées en examinant ses performances avec différents types de contaminants, concentrations, et conditions environnementales.
- Mener des recherches sur la biodégradation du chitosane dans l'environnement aquatiques pour mieux comprendre son destin et son impact sur les écosystèmes.
- Organiser des programmes de sensibilisation pour informer le public sur les avantages de ces technologies et encourager des pratiques plus respectueuses de l'environnement.
- Envisager la création de matériaux composites en combinant le chitosane avec d'autres matériaux, tels que des nanomatériaux ou des polymères, pour améliorer ses capacités d'adsorption et de filtration.
- Recherchez les moyens d'améliorer les propriétés du chitosane tels que sa solubilité, sa stabilité pour en augmenter l'efficacité dans le traitement de l'eau.

Références

- Abd El-Hack, M. E., El-Saadony, et al** (2020). Antimicrobial and antioxidant properties of chitosan and its derivatives and their applications : A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, P.P 2726-2744.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.153>
- Abdel-Nour, M., Duncan, C., et al** (2013). Biofilms : The Stronghold of *Legionella pneumophila*. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(11), P.P 21660-21675.
<https://doi.org/10.3390/ijms141121660>
- Abu Kwaik, Y., Gao, L. et al** (1998). Invasion of protozoa by *Legionella pneumophila* and its role in bacterial ecology and pathogenesis. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(9), P.P 3127-3133. <https://doi.org/10.1128/AEM.64.9.3127-3133.1998>
- AFNOR. (2003)**. Qualité de l'eau - Recherche et dénombrement des *Legionella* spp et *Legionella pneumophila*. Méthode par ensemencement direct et après concentration par filtration sur membrane ou centrifugation. (NF T90-431). [en ligne]. [Consulté le : 23/08/2021]. Disponible sur le web : <https://www.boutique.afnor.org/norme/nf-t90-431/qualite-de-l-eaurecherche-et-denombrement-de-legionella-spp-et-de-legionella-pneumophila-methode-parencemencement-direct-et-ap/article/717733/fa117459>
- Akermi, M., Doleans, A., et al** (2006). Characterization of the *Legionella anisa* population structure by pulsed-field gel electrophoresis. *FEMS Microbiology Letters*, 258(2), P.P 204-207. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2006.00216.x>
- Allegra, S., Girardot, F., et al** (2011). Evaluation of an immunomagnetic separation assay in combination with cultivation to improve *Legionella pneumophila* serogroup 1 recovery from environmental samples. *Journal of Applied Microbiology*, 110(4), 952-961.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.04955.x>

- Allen, T. P., Fried, J. S et al (1985).** Legionnaires' disease associated with rash and renal failure. Archives of Internal Medicine, 145(4), P.P 729-730.
- Allouche, F.-N. (2021).** A user-friendly *Ulva lactuca*/chitosan composite bead for mercury removal. Inorganic Chemistry Communications, 130, 108747. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2021.108747>
- Amodeo, M. R., Murdoch, D. R., et al (2010).** Legionnaires' disease caused by *Legionella longbeachae* and *Legionella pneumophila*: Comparison of clinical features, host-related risk factors, and outcomes. Clinical Microbiology and Infection, 16(9), P.P 1405-1407. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.03125.x>
- AOAC. (1980).** AOAC: Official Methods of Analysis, 1980. Washington DC,: Association of official analytical chemists. [En ligne]. [Consulté le : 12/03/2023]. Disponible sur le site web : <https://archive.org/details/gov.law.aoac.methods.1980/page/n13/mode/2up>
- Bemer, P., Leautez, S., et al (2002).** *Legionella pneumophila* Arthritis : Use of medium specific for Mycobacteria for isolation of *L. pneumophila* in culture of articular fluid specimens. Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America, 35(1), E6-7. <https://doi.org/10.1086/340713>
- Bernkop-Schnürch, A., & Dünnhaupt, S. (2012).** Chitosan-based drug delivery systems. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics: Official Journal of Arbeitsgemeinschaft Fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V, 81(3), P.P 463-469. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2012.04.007>
- BOUALEM, Z., HOCINE, A. (2018).** Valorisation biotechnologique des coproduits de crevette rouge *aristeus antennatus* (Risso, 1816) : Etude du pouvoir antioxydant et antimicrobien du chitosane. [En ligne]. Mémoire de master. Hydrobiologie marine et continentale. Algérie : Université Abdehamid Ibn Badis-Mostaganem, 40p. [Consulté le 26/07/2021]. Disponible sur le lien :

- <http://ebiblio.univmosta.dz/bitstream/handle/123456789/4109/m%c3%a9moire%20maste%20r%202018.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Cámara González, T., Lázaro Moreno, T et al (1993).** [Pericarditis due to Legionella]. *Anales De Medicina Interna* (Madrid, Spain: 1984), 10(9), 449-451.
- Castor, M. L., Wagstrom, E. A., et al (2005).** An outbreak of Pontiac fever with respiratory distress among workers performing high-pressure cleaning at a sugar-beet processing plant. *The Journal of Infectious Diseases*, 191(9), 1530-1537.
<https://doi.org/10.1086/428776>
- Castro-Alfárez, M., Polo-López, M., et al (2017).** Mechanistic modeling of UV and mild-heat synergistic effect on solar water disinfection. *Chemical Engineering Journal*, 316, P.P 111-120. doi:10.1016/j.cej.2017.01.026
- CSTB (2012)** Maîtrise du risque de développement des légionelles dans les réseaux d'eau chaude sanitaire Défaillances et préconisations.
- Cui, X., Li, H., Yao, Z., et al . (2019).** Removal of nitrate and phosphate by chitosan composited beads derived from crude oil refinery waste : Sorption and cost-benefit analysis. *Journal of Cleaner Production*, 207, P.P 846-856. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.10.027>
- Diederén, B. M. W. (2008).** Legionella spp. And Legionnaires' disease. *The Journal of Infection*, 56(1), 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2007.09.010>
- Doucet, D., & Retnakaran, A. (2012).** Insect Chitin. In *Advances in Insect Physiology* (Vol. 43, P.P 437-511). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-391500-9.00006-1>
- E, A. (2018).** Chitosan Membrane Embedded With ZnO/CuO Nanocomposites for the Photodegradation of Fast Green Dye Under Artificial and Solar Irradiation. *Analytical chemistry insights*, 13. <https://doi.org/10.1177/1177390118763361>
- Epalle, T. (2015).** Suivi de l'état viable non cultivable de souches de Legionella pneumophila soumises à différents stress (thermique ou chloré) : Evaluation de leur pouvoir pathogène.

- Exner, M., Pleischl, S., et al (2011).** Erfahrungen zur Prävention und Kontrolle von Legionellen in Deutschland. Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz, 54(6), P.P 699-708. <https://doi.org/10.1007/s00103-011-1286-1>
- Exner, M., Pleischl, S., Grummt, H.-J., et al (2011).** Erfahrungen zur Prävention und Kontrolle von Legionellen in Deutschland. Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz, 54(6), P.P 699-708. <https://doi.org/10.1007/s00103-011-1286-1>
- Fanjeaux, C. (2010).** Legionella et Légionellose : Évolution des données épidémiologiques en France de 1987 à 2008.
- FAO. (2022).** *Aristeus antennatus* Risso,1816. Fisheries and Aquaculture Division. Rome. [en ligne]. [Consulté le 25/03/2022]. Disponible sur le site web : <https://www.fao.org/fishery/en/aqspecies/3422/en>
- Feeley, J. C., Gibson, R. J., et al (1979).** Charcoal-yeast extract agar : Primary isolation medium for Legionella pneumophila. Journal of Clinical Microbiology, 10(4), P.P 437-441. <https://doi.org/10.1128/jcm.10.4.437-441.1979>
- Fernandez-Kim, S.-O. (2004).** Physicochemical and functional properties of crawfish chitosan as affected by different processing. LSU Master's Theses, 1338. [en ligne]. [Consulté le 20/05/2022]. Disponible sur le site web : https://digitalcommons.lsu.edu/gradschool_theses/1338
- Fields, B. S., Benson, R. F., et al (2002).** Legionella and Legionnaires' disease : 25 years of investigation. Clinical Microbiology Reviews, 15(3), P.P 506-526. <https://doi.org/10.1128/CMR.15.3.506-526.2002>
- Fliermans, C. B. (1996).** Ecology of Legionella : From data to knowledge with a little wisdom. Microbial Ecology, 32(2), P.P 203-228. <https://doi.org/10.1007/BF00185888>

- Franzin, L., Cabodi, D., et al (2002).** Evaluation of the efficacy of ultraviolet irradiation for disinfection of hospital water contaminated by Legionella. *The Journal of Hospital Infection*, 51(4), 269. <https://doi.org/10.1053/jhin.2002.1245>
- Fraser, D. W., Tsai, T. R., et al (1977).** Legionnaires' disease : Description of an epidemic of pneumonia. *The New England Journal of Medicine*, 297(22), P.P 1189-1197. <https://doi.org/10.1056/NEJM197712012972201>
- Gael Rocher V. (2008).** Synthèse et caractérisation de billes d'alginate magnétiques pour l'élimination de polluants organiques dans les effluents par séparation magnétique.. Matériaux. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, Français. NNT : . tel-00346240
- Gao, Y., & Zhang, J. (2020).** Chitosan Modified Zeolite Molecular Sieve Particles as a Filter for Ammonium Nitrogen Removal from Water. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(7), Article 7. <https://doi.org/10.3390/ijms21072383>
- Giannakas, A., & Pissanou, M. (2018).** Chitosan/Bentonite Nanocomposites for Wastewater Treatment : A Review. 1, 1010.
- Gowani, S. A., Kumar, A., et al (2013).** Legionella pneumonia complicated by myocarditis and torsades de pointes : A case report and review of literature. *Connecticut Medicine*, 77(6), P.P 331-334.
- Guleria, R., Nisar, N., et al (2005).** Mycoplasma pneumoniae and central nervous system complications : A review. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 146(2), P.P 55-63. <https://doi.org/10.1016/j.lab.2005.04.006>
- GUESMI, K. HENNOUS, M. (2021).** Valorisation biotechnologique des coproduits de crustacés : étude du pouvoir antimicrobien du chitosane et traitement d'une eau contaminée par *Legionella pneumophila*. Mémoire d'ingénieur et de master en sciences de la mer, option : Biotechnologie Marine, Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral.

- Haddab, M., & Kortbi, R. (2020).** Extraction de biomolécules à haute valeur ajoutée à partir des coproduits de crustacés en vue d'une valorisation comme ingrédients fonctionnels dans les domaines alimentaire et pharmaceutique. Mémoire d'ingénieur et de master en sciences de la mer, option : Biotechnologie Marine, Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral. 98p.
- HERGUEMA, Y. KHIAT, M. (2022).** Valorisation biotechnologique des coproduits de crustacés : étude de l'efficacité du traitement avec du chitosane et de l'irradiation UV dans l'élimination de *Legionella pneumophila*. Mémoire d'ingénieur et de master en sciences de la mer, option : Biotechnologie Marine, Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral.
- Hijazi, N. (2014).** Développement de composites nanostructurés à base de biopolyesters et de nanoparticules de chitosane générées par des procédés assistés par CO₂ supercritique [Phdthesis, Ecole des Mines d'Albi-Carmaux]. <https://theses.hal.science/tel-01165171>
- Hosseinnejad, M., & Jafari, S. M. (2016).** Evaluation of different factors affecting antimicrobial properties of chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*, 85, P.P 467-475. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.01.022>
<http://cnr.univ-lyon1.fr/>;
- Jaffer, S., & Sampalis, J. S. (2007).** Efficacy and safety of chitosan HEP-40 in the management of hypercholesterolemia : A randomized, multicenter, placebo-controlled trial. *Alternative Medicine Review: A Journal of Clinical Therapeutic*, 12(3), P.P 265-273.
- Jamilloux, Y., Jarraud, S., et al (2012).** *Legionella*, légionellose. *médecine/sciences*, 28(6-7), Article 6-7. <https://doi.org/10.1051/medsci/2012286018>
- Johnson, J. D., Raff, M. J., & Van Arsdall, J. A. (1984).** Neurologic manifestations of Legionnaires' disease. *Medicine*, 63(5), P.P 303-310. <https://doi.org/10.1097/00005792-198409000-00004>

- Jomehzadeh, N., Moosavian, M., et al (2019).** Legionella and legionnaires' disease : An overview. *Journal of Acute Disease*, 8(6), 221. <https://doi.org/10.4103/2221-6189.272853>
- Joseph, C. A., Ricketts, K. D., et al . (2010).** Legionnaires disease in Europe 2007-2008. *Euro Surveillance: Bulletin Europeen Sur Les Maladies Transmissibles = European Communicable Disease Bulletin*, 15(8), 19493.
- Kasaai, M. R. (2007).** Calculation of Mark–Houwink–Sakurada (MHS) equation viscometric constants for chitosan in any solvent–temperature system using experimental reported viscometric constants data. *Carbohydrate Polymers*, 68(3), P.P 477-488. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.11.006>
- Kaufmann, A. F., McDade, J. E et al (1981).** Pontiac fever : Isolation of the etiologic agent (*Legionella pneumophila*) and demonstration of its mode of transmission. *American Journal of Epidemiology*, 114(3), P.P 337-347. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a113200>
- KEFIL, S. (2020).** Valorisation biotechnologique des coproduits de crevettes : Etude du pouvoir antimicrobien et anti-inflammatoire du chitosane. [en ligne] Mémoire d'ingénieur et de master en sciences de la mer , option : Biotechnologie Marine, Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral. 70p
- Kim, B. R., Anderson, J. E., et al. (2002).** Literature review—Efficacy of various disinfectants against *Legionella* in water systems. *Water Research*, 36(18), P.P 4433-4444. [https://doi.org/10.1016/s0043-1354\(02\)00188-4](https://doi.org/10.1016/s0043-1354(02)00188-4)
- Le Roux, K. (2012).** Purification de la chitine par hydrolyse enzymatique à partir de coproduits de crevette *Penaeus vannamei*. Caractérisations des produits et optimisation du procédé. [en ligne]. Thèse de doctorat. Biochimie et biotechnologie des produits marins. France :

- Université de Nantes, 222p. [Consulté le 06/04/2022]. Disponible sur le site web : <https://archimer.ifremer.fr/doc/00087/19828/>
- Legionellosis (Legionnaires' Disease and Pontiac Fever)—Overview | Occupational Safety and Health Administration. (s. d.). Consulté 27 mai 2023, à l'adresse <https://www.osha.gov/legionnaires-disease>
- Leluc, O., Doucet, V et al (2000).** [Legionella pneumophila : Unusual lung and hepatic manifestations]. *Journal De Radiologie*, 81(3), P.P 241-242.
- Liu, Y., Xing, R., et al (2020).** Chitin extraction from shrimp (*Litopenaeus vannamei*) shells by successive two-step fermentation with *Lactobacillus rhamnoides* and *Bacillus amyloliquefaciens*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 148, P.P 424-433. doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.01.124
- Malan, A. K., Martins, T. B., et al (2003).** Comparison of two commercial enzyme-linked immunosorbent assays with an immunofluorescence assay for detection of *Legionella pneumophila* types 1 to 6. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(7), P.P 3060-3063. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.7.3060-3063.2003>
- McCoy, W. F., Bryers, J. Det al (1981).** Observations of fouling biofilm formation. *Canadian Journal of Microbiology*, 27(9), P.P 910-917. <https://doi.org/10.1139/m81-143>
- McDade, J. E., Shepard, C. C et al . (1977).** Legionnaires' disease : Isolation of a bacterium and demonstration of its role in other respiratory disease. *The New England Journal of Medicine*, 297(22), P.P 1197-1203. <https://doi.org/10.1056/NEJM197712012972202>
- Merzendorfer, H., & Zimoch, L. (2003).** Chitin metabolism in insects : Structure, function and regulation of chitin synthases and chitinases. *Journal of Experimental Biology*, 206(24), P.P 4393-4412. <https://doi.org/10.1242/jeb.00709>

- Mohamed, N. A., & Abd El-Ghany, N. A. (2018).** Novel aminohydrazide cross-linked chitosan filled with multi-walled carbon nanotubes as antimicrobial agents. *International Journal of Biological Macromolecules*, 115, 651-662. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.04.101>
- Molmeret, M., Horn, M., et al (2005).** Amoebae as training grounds for intracellular bacterial pathogens. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(1), P.P 20-28. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.1.20-28.2005>
- Moore, M., & Shelton, S. R. (2014).** Updated Guidelines for the Control of Legionella in Western Pennsylvania. https://www.rand.org/pubs/external_publications/EP66197.html
- Muder, R. R., & Yu, V. L. (2002).** Infection due to Legionella species other than *L. pneumophila*. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 35(8), P.P 990-998. <https://doi.org/10.1086/342884>
- Newton, H. J., Ang, D. K., et al (2010).** Molecular Pathogenesis of Infections Caused by *Legionella pneumophila*. *Clinical Microbiology Reviews*, 23(2), P.P 274-298. <https://doi.org/10.1128/cmr.00052-09>
- Orsi, G. B., Vitali, M., et al. (2014).** Legionella control in the water system of antiquated hospital buildings by shock and continuous hyperchlorination : 5 years experience. *BMC Infectious Diseases*, P.P 14, 394. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-14-394>
- OULHIZ, A. (2018).** Évaluation, valorisation et utilisation des coproduits de la crevette rouge *aristeus antennatus* (Risso, 1816) et du thon *thunnusthynnus* (Linné, 1758) pour l'alimentation du tilapia rouge (*oreochromis* sp.). [En ligne]. Thèse de doctorat. Ecologie et environnement marin. Algérie. Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem. P.P 14-22-23-p. [Consulté le 03/06/2021]. Disponible sur le web : <http://e-biblio.univ-mosta.dz/handle/123456789/13260>.

- Pandit, A., Indurkar, A et al (2021).** A systematic review of physical techniques for chitosan degradation. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 2, 100033. <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2021.100033>
- Popescu, P.-A.; Palade, L.M.; et al (2022),** Chitosan-Based Edible Coatings Containing Essential Oils to Preserve the Shelf Life and Postharvest Quality Parameters of Organic Strawberries and Apples during Cold Storage. *Foods* 11, 3317. <https://doi.org/10.3390/foods11213317>
- Qin, Y., Li, P., & Guo, Z. (2020).** Cationic chitosan derivatives as potential antifungals : A review of structural optimization and applications. *Carbohydrate Polymers*, 236, 116002. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116002>
- Raafat D, von Bargaen K, et al (2020).** Insights into the mode of action of chitosan as an antibacterial compound. *Appl Environ Microbiol.* 2008 Jun;74(12): P.P 3764-73. doi: 10.1128/AEM.00453-08. Epub 2008 May 2. Erratum in: *Appl Environ Microbiol.* 2008 Dec;74(23):7455. PMID: 18456858; PMCID: PMC2446574.
- Raheriniaina, Christian E., Randriamahatody, Z et al (2014).** Valorisation des sous-produits de la pêche pour l'alimentation des poulets. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 67(3), P.P 113-119.
- Rao, M., Muñoz, J., & Stevens, W. (2000).** Critical factors in chitin production by fermentation of shrimp biowaste. (S. Link, Éd.) *Applied Microbiology and Biotechnology*, 54(6), P.P 808-813. doi:10.1007/s002530000449
- Rinaudo, M. (2006).** Chitin and chitosan : Properties and applications. *Progress in Polymer Science*, 31(7), P.P 603-632. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001>
- Ruf, B., Schürmann, D., et al (1990).** Prevalence and diagnosis of Legionella pneumonia : A 3-year prospective study with emphasis on application of urinary antigen detection. *The*

- Journal of Infectious Diseases, 162(6), 1341-1348.
<https://doi.org/10.1093/infdis/162.6.1341>
- Sahoré, A., & Abouattier, J. (2016).** Quelques méthodes d'analyse biochimique de produits alimentaires. Saint-Denis: Connaissances & Savoirs. 94p.
- sainclivier, marcel. (1983).** l'industrie alimentaire aliéutique : Poisson matière première. 1, 263.
- Saito H, Sakakibara Y, et al. (2019) Antibacterial activity of lysozyme-chitosan oligosaccharide conjugates (LYZOX) against *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* and Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. PLoS ONE 14(5): e0217504.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217504>
- Salvatorelli, G., Medici, Set al (2005).** Effectiveness of installing an antibacterial filter at water taps to prevent *Legionella* infections. The Journal of Hospital Infection, 61(3), P.P 270-271.
<https://doi.org/10.1016/j.jhin.2005.04.012>
- Schreiber, S. B., Bozell, J. J., et al (2013).** Introduction of primary antioxidant activity to chitosan for application as a multifunctional food packaging material. Food Hydrocolloids, 33(2), P.P 207-214. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.03.006>
- Simon, Q. (2019).** Pneumopathies à *Legionella Pneumophila*.
- Sire, S., Staub, T., & Christmann, D. (1994).** Manifestations extra-pulmonaires des légionelloses. Médecine et Maladies Infectieuses, 24(10), 874-880.
[https://doi.org/10.1016/S0399-077X\(05\)80576-1](https://doi.org/10.1016/S0399-077X(05)80576-1)
- Song Y, Elfadil E. B, et al (2002).** Emulsifying properties and bactericidal action of chitosan-lysozyme conjugates. Food Research International, 35, P.P 459-466
- Stoodley, P., Sauer, K., et al (2002).** Biofilms as complex differentiated communities. Annual Review of Microbiology, 56, 187-209.
<https://doi.org/10.1146/annurev.micro.56.012302.160705>

- Sun, T., Yao, Q et al (2008).** Antioxidant activity of N-carboxymethyl chitosan oligosaccharides. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 18(21), P.P 5774-5776. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2008.09.072>
- Tai, J., Benchekroun, M. Net al (2012).** Nosocomial Legionnaires' Disease : Risque and Prevention. *Frontiers in Science*, 2(4), P.P 62-75.
- Tan, W., Zhang, J., et al (2017).** Design, synthesis of novel chitosan derivatives bearing quaternary phosphonium salts and evaluation of antifungal activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 102, P.P 704-711. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.04.073>
- The State of Food and Agriculture 2020. (2020). FAO. <https://doi.org/10.4060/cb1447en>
- Trikkaliotis, D. G., Ainali, N. M., et al (2022).** Removal of Heavy Metal Ions from Wastewaters by Using Chitosan/Poly(Vinyl Alcohol) Adsorbents : A Review. *Macromol*, 2(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/macromol2030026>
- Truong, T., Hausler, Ret al (2007).** Valorisation des résidus industriels de pêches pour la transformation de chitosane par technique hydrothermo-chimique. *Revue des sciences de l'eau / Journal of Water Science*, 20(3), P.P 253-262. doi:10.7202/016170ar
- VO N-D-K (2013).** Synthèse de nanoparticules d'or par irradiation de solution aqueuse d'ions Au(III) en présence de chitosane.[en ligne]. Thèse de doctorat. Chimie. France : Université de Reims Champagne-ardenne, 58p. [Consulté le : 12/07/2021]. Disponible sur le web : [file:///C:/Users/server/Downloads/34717_VO_2013_archivage%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/server/Downloads/34717_VO_2013_archivage%20(1).pdf).
- Yilmaz Atay H. (2020).** Antibacterial Activity of Chitosan-Based Systems. *Functional Chitosan*. Mar 6: P.P 457–89. doi: 10.1007/978-981-15-0263-7_15. PMID: PMC7114974.
- Younes, I., & Rinaudo, M. (2015).** Chitin and Chitosan Preparation from Marine Sources. Structure, Properties and Applications. *Marine Drugs*, 13(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/md13031133>

Zhang, H., Zhong, X., et al (2012). Effects of chitosan and water-soluble chitosan micro- and nanoparticles in obese rats fed a high-fat diet. *International Journal of Nanomedicine*, 7, P.P 4069-4076. <https://doi.org/10.2147/IJN.S33830>

Zou, Y., Heyndrickx, M et al (2023). Valorisation of crustacean and bivalve processing side streams for industrial fast time-to-market products : A review from the European Union regulation perspective. *Frontiers in Marine Science*, 10. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmars.2023.1068151>


Business Model Canvas

Introduction

Dans le cadre de l'Arrêté ministériel numéro 1275, nous avons suivi une formation en entrepreneuriat au sein de l'incubateur de notre école supérieure. Cette formation avait pour objectif de nous préparer à la création d'une startup axée sur notre domaine d'expertise, à savoir la purification et la désinfection de l'eau. Notre intention était de contribuer à résoudre le problème croissant de pénurie d'eau dans le monde tout en développant un processus respectueux de l'environnement. En tant qu'ingénieurs spécialisés dans les sciences marines, nous étions conscients des conséquences de ces facteurs sur la pollution côtière. Notre initiative visait également à réduire cette pollution tout en préservant les écosystèmes marins.

L'objectif de notre startup est donc de créer une solution durable et rentable pour le traitement de l'eau en utilisant des billes de chitosane dérivées des sous-produits de la pêche et de l'aquaculture, à savoir les crustacés. Ceci dans le but de contribuer à résoudre les problèmes mondiaux de pénurie d'eau et de pollution tout en favorisant une utilisation plus efficace des ressources marines

Partenaires clés	Activités principales	Proposition de valeur	Relation clients	Segments du marché
<p>Institut Pasteur Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-Chimiques Unité de développement des équipements solaires Incubateur bleu L'Agence Nationale d'Appui et de Développement de l'Entreprenariat Brenntag Algérie Microbiotech dz Pêcheries Poissonneries Pest Custom Solution</p>	<p>Collecte de matière première Prétraitement Production de chitosane Production des billes</p>	<p>Une entreprise innovante valorise des carapaces de crustacés en extrayant un biopolymère durable aux propriétés antibactériennes et absorbantes. Cette démarche écologique lutte contre la pollution biologique crabe bleu espèce envahissante, propose des produits respectueux de l'environnement et offre une stabilité d'approvisionnement</p>	<p>Téléphone Mailing Site web Réseaux sociaux Service après-vente Facturation par cheque</p>	<p>La Société des Eaux et de l'Assainissement d'Alger SEAAL Fournisseur d'équipements de traitement des eaux WATER ALGERIEN DESIGN BBL SARL EURL SAIMEX TRAITEMENT DES EAUX DIPROCHIM. Algérie. WATER SERVICE OF AFRICA AQUQPURE Algérie Fly group AZ GROUP Ministère de commerce</p>
	<p>Ressources clés</p>		<p>Canaux de distribution</p>	
	<p>HUMAINES : Collecteur de matière première + 2 manœuvres + ingénieur de laboratoire + technicien de laboratoire</p> <p>Matériel : Haute, étuve, plaque chauffante magnétique, balance, distillateur, pompe péristaltique, verrerie. Produits chimiques, matière première</p>		<p>Offre de service Site web Réseaux sociaux Mailing</p>	

	<p>FINANCIÈRES : Besoins de financement = 2 091 720.00 DA</p> <p>INTELLECTUELLES : marque + logo FLOATSPEAK</p> 			
Structure des couts		Flux de revenus		
<p>Coût de location = 240 000 DA</p> <p>Coût des équipements = 1 851 720.00 DA</p> <p>Total d'investissement = 2 091 720.00 DA</p> <p>Coût énergétique = 180 000 DA</p> <p>Coût de la main-d'œuvre = 2 268 840 DA</p> <p>Coût de production de chitosane = 2 788 626.00 DA</p>		<p>Vente de chitosane = 4 182 939.00 DA</p> <p>Licence = 1 000 000.00 DA</p>		

Partenaires clés

- Institut Pasteur
- CRAPC = Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-Chimiques
- UDES = Unité de développement des équipements solaires
- Incubateur bleu
- ANADE = L'Agence Nationale d'Appui et de Développement de l'Entrepreneuriat
- Brenntag Algérie
- Microbiotech dz
- Pêcheries
- Poissonneries
- Pest Custom Solution

Valeurs ajoutées

Une entreprise innovante valorise des carapaces de crustacés en extrayant un biopolymère durable aux propriétés antibactériennes et absorbantes. Cette démarche écologique lutte contre la pollution biologique crabe bleu espèce envahissante, propose des produits respectueux de l'environnement et offre une stabilité d'approvisionnement.

Clients

- La Société des Eaux et de l'Assainissement d'Alger SEAAL
- Fournisseur d'équipements de traitement des eaux
- WATER ALGERIEN DESIGN
- BBL SARL
- EURL SAIMEX TRAITEMENT DES EAUX
- DIPROCHIM. Algérie.
- WATER SERVICE OF AFRICA
- AQUQPURE Algérie
- Fly group
- AZ GROUP
- Ministère de commerce

- Ministère de commerce

Structure des couts :

Coûts du matériel

N°	Désignation	Quantité	Prix unitaire	prix HT DA
1	Balance	1	2 500,00	2 500,00
2	Distillateur	1	382 561,00	382 561,00
3	Etuve	1	336 437,00	336 437,00
4	Haute	1	541 450,00	541 450,00
5	Plaque chauffante magnétique	2	278 460,00	556 920,00
6	Pompe péristaltique	1	11 852,00	11 852,00
7	Verrerie	1	20 000,00	20 000,00
TOTAL HT				1 851 720,00
TVA 19 %				351 826,8
TTC				2 203 546,8

Les produits chimiques :

Nmr	Désignation	Prix HT DA
1	Acide acétique	300
2	Acide chlorhydrique	300
3	Hydroxyde de sodium	300
Total HT		900
TVA 19 %		171
TTC		1071

Calculs des paies

Poste	Sal, de base DA	PRI DA	Ind Nuisances DA	Sal.Poste DA	Ret SS DA	Ind Panier DA	Sal Impos DA	Ret IRG DA	Frais Déplac DA	Net à payer DA
Ingénieur de labo	30000,00	8000,00	5000,00	43000,00	3870,00	3600,00	42730,00	0,00	2000,00	44730,00
Technicien de labo	30000,00	7000,00	5000,00	42000,00	3780,00	3600,00	41820,00	0,00	2000,00	43820,00
Manœuvre	20000,00	4000,00	5000,00	29000,00	2610,00	3600,00	29990,00	0,00	2000,00	31990,00
Manœuvre	20000,00	4000,00	5000,00	29000,00	2610,00	3600,00	29990,00	0,00	2000,00	31990,00
Collecteur	20000,00	4000,00	5000,00	29000,00	2610,00	3600,00	29990,00	0,00	2000,00	31990,00
Total/ mois										184520,00
Total/ ans										2214240,00

Le tableau suivant exprime les différentes charges; quelle qui soient : fixes ou variables :

Désignation	Coûts DA		
	Mensuel	Annuel	Total
Local	20 000,00	240 000,00	240 000,00
Equipements de laboratoire	/		2 203 546,80
Produits chimique	714,00	8 568,00	8 568,00
Cout énergétique	15 000,00	180 000,00	180 000,00
Impôts et taxes		10 000,00	10 000,00
Personnel	184 520,00	2 214 240,00	2 214 240,00
Amortissement	229 415,45	2 752 985,34	2 752 985,34
Cout de production			2 752 985,34

L'estimation des revenus :

La première année

<i>1^{ère} année</i>		
<i>Production</i>	<i>Coûts de production</i>	<i>Prix de vente</i>
14,40	2 807 585,34 DA	4 211 378,01 DA

Chiffre d'affaires	5 211 378,01 DA
---------------------------	-----------------

La 2^{ème} année

2^{ème} année		
Production	Coûts de production	Prix de vente
28,80	3 440 118,00 DA	5 160 177,00 DA
Chiffre d'affaire	6 160 177,00 DA	

La 3^{ème} année

3^{ème} année		
Production	Coûts de production	prix de vente
57,60	3 512 970,00 DA	5 269 455,00 DA
Chiffre d'affaire	6 269 455,00 DA	

Conclusion

En résumé, le Business Model Canvas (BMC) que nous avons exposé illustre notre entreprise visionnaire, focalisée sur la valorisation des carapaces de crustacés pour extraire un biopolymère résilient, le chitosane, doté de propriétés antibactériennes et absorbantes. Notre démarche écologique s'inscrit dans une véritable bataille contre la pollution biologique, tout en offrant une gamme de produits respectueux de l'environnement, garantissant une constance d'approvisionnement.

Nos partenaires stratégiques, tels que l'Institut Pasteur, l'Agence Nationale d'Appui et de Développement de l'Entrepreneuriat, et d'autres acteurs majeurs de l'industrie, revêtent une importance cruciale dans la prospérité de notre entreprise. Ils apportent à la table leur savoir-faire inestimable, des ressources conséquentes et un réseau d'influence substantiel, soutenant nos activités centrales, de l'acquisition de matières premières à la production de chitosane.

Notre modèle d'affaires repose sur une palette diversifiée de canaux de distribution, à savoir notre site web, les réseaux sociaux et une stratégie de mailing ciblée, propulsant ainsi notre offre de service vers de nouveaux horizons. Les ressources essentielles, qu'elles soient de nature humaine, matérielle, financière, ou intellectuelle, sont soigneusement ciblées pour garantir la fluidité opérationnelle de notre entreprise.

En ce qui concerne la structure des coûts, nous avons scrupuleusement pris en compte une multitude de composantes, notamment les charges locatives, les coûts d'équipement, les dépenses énergétiques, les coûts de main-d'œuvre et leurs contributions sociales, ainsi que les coûts liés à la production de chitosane. Ces dépenses sont adroitement couvertes par les bénéfices engendrés par la vente du chitosane et de notre procédé innovant.

Dans l'ensemble, notre BMC reflète une approche méticuleuse et audacieuse pour notre entreprise, mettant en lumière les partenariats stratégiques, les activités cardinales, la proposition de valeur, les canaux de distribution et la structure des coûts. Il affiche un ferme engagement envers la durabilité et l'innovation dans le domaine de la purification de l'eau, constituant un socle solide pour la croissance et la prospérité continues de notre entreprise à l'horizon.

Résumé

Résumé

La valorisation des coproduits de la mer est devenue une préoccupation majeure dans l'industrie alimentaire et de la pêche. Le chitosane, issu de cette valorisation, présente de nombreuses applications dans divers secteurs. Cependant, les eaux usées et les eaux potables contaminées, notamment par les légionnelles, posent un grave problème de santé publique. Dans le cadre de cette étude, les coproduits de crevettes sont valorisés en chitosane, qui est ensuite utilisé pour traiter une eau contaminée par *Legionella pneumophila*. Différentes méthodes de décontamination sont également comparées.

Les carapaces de crevettes sont riches en minéraux, protéines et polysaccharides, notamment la chitine. Le chitosane obtenue par extraction chimique est de bonne qualité, avec un DD de (98,9%), une solubilité excellente dans l'acide acétique et un poids moléculaire de 223 kDa, idéal pour le traitement des eaux. Les billes de chitosane ont donné d'excellents résultats dans le traitement des eaux contaminées par *L. pneumophila*, atteignant des taux d'abattement de près de 100%. Cela équivaut à une stérilisation efficace.

Mots clés : coproduit de crustacés, chitosane, *Legionella pneumophila*, chitine, traitement des eaux.

ملخص

تحويل النفايات الناتجة عن البحر أصبح قلقًا كبيرًا في صناعة الأغذية والصيد. الكيتوزان، الذي يتم استخراجه من هذا التقييم، لديه تطبيقات عديدة في مختلف القطاعات. حيث، تشكل مياه الصرف الصحي ومياه الشرب الملوثة، وخاصة الملوثة بواسطة الليجيونيلا، مشكلة صحية عامة خطيرة. في سياق هذه الدراسة، يتم تحويل المنتجات الثانوية الناتجة عن الروبيان إلى كيتوزان، الذي يُستخدم بعد ذلك في معالجة مياه تلوثت ببكتيريا الليجيونيلا الرئوية. كما يتم مقارنته بطرق تطهير مختلفة.

قشور الروبيان غنية بالمعادن والبروتينات والبوليساكاريدات، بما في ذلك الكايتين بشكل ملحوظ. الكيتوزان الذي تم الحصول عليه من خلال استخراج كيميائي من الجودة العالية، بدرجة تفكك تبلغ (98.9%)، وقدرة ممتازة على الذوبان في حمض الخل ووزن جزيئي يبلغ 223 كيلو دالتون، مما يجعله مثاليًا لمعالجة المياه. أظهرت كريات الكيتوزان نتائج ممتازة في معالجة المياه الملوثة ببكتيريا الليجيونيلا الرئوية، حيث تم التوصل إلى معدلات إزالة تقترب من 100٪، وهو ما يعادل التعقيم الفعال.

الكلمات المفتاحية: المنتجات الثانوية للقشريات، الكيتوزان، *Legionella pneumophila*، الكايتين، معالجة المياه،

Abstract:

The valorization of byproducts from the sea has become a major concern in the food and fishing industry. Chitosan, derived from this valorization, has numerous applications in various sectors. However, wastewater and contaminated drinking water, especially by *Legionella*, pose a serious public health problem. In the context of this study, shrimp byproducts are valorized into chitosan, which is then used to treat water contaminated by *Legionella pneumophila*. Different decontamination methods are also compared.

Shrimp shells are rich in minerals, proteins, and polysaccharides, notably chitin. The chitosan obtained through chemical extraction is of high quality, with a degree of deacetylation of (98.9%), excellent solubility in acetic acid, and a molecular weight of 223 kDa, ideal for water treatment. Chitosan beads yielded excellent results in the treatment of water contaminated by *L. pneumophila*, achieving removal rates of nearly 100%, which equates to effective sterilization.

Key words: Co-products of crustaceans, chitosan, *Legionella pneumophila*, chitin,