

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 et de
Master en sciences de la mer**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Hydrobiologie Marine et Continentale

Spécialité : Biotechnologie Marine

Thème :

**Valorisation biotechnologique des coproduits marins et
élaboration d'une variété de biomolécules aux propriétés
pharmacologiques**

Présenté par :

Chekireb lyna abir

Sennane hana

Soutenu le 12/10 /2023 devant le jury composé de :

Pr. BACHARI F	ENSSMAL	Présidente
Pr. ALOUACHE S.	ENSSMAL	Examinatrice
Mme.AMROUCHE L	ENSSMAL	Promotrice
Dr. BENSOUICI C.	CRBT	Co-promoteur
Dr. MAOUEL Dj.	ENSSMAL	Représentante incubatrice
Mr MEZIANE A. ANVREDET	Représentant	socio-économique

Année universitaire : 2022-2023

Remerciements

Avant tout, nous remercions ALLAH tout puissant, pour nous avoir accordé la volonté, la force et la patience pour l'accomplissement de ce travail.

Nous souhaitons exprimer notre profonde gratitude à toutes les personnes qui ont joué un rôle crucial dans la réalisation de notre projet de fin d'études. Ce travail représente une étape significative de notre parcours académique, et il a été possible grâce au soutien, à l'expertise et à l'engagement de nombreuses personnes.

Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus chaleureux à notre encadreur Mme Ammrouche Lynda. Nous tenons à vous remercier sincèrement pour votre confiance en notre travail, pour les heures que vous avez consacrées à nous aider, et pour votre patience inépuisable. Grâce à vous, nous avons non seulement accompli un projet académique, mais nous avons également acquis des compétences et des connaissances qui nous serviront tout au long de notre carrière.

Nous tenons à exprimer notre sincère gratitude envers notre co-encadreur Monsieur Bensouici Chawki, pour sa précieuse contribution à notre projet de fin d'études. Son expertise, sa collaboration et son dévouement ont grandement enrichi notre expérience académique.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude envers nos précieux partenaires socioéconomiques qui ont contribué de manière significative à notre projet. Leur expertise, leur collaboration et leur engagement ont été essentiels pour la réussite de notre travail.

Tout d'abord, nous souhaitons remercier Madame Latrous, pharmacienne au sein de CRD SAIDAL, pour sa précieuse contribution à notre projet.

Nous tenons également à exprimer notre reconnaissance envers Madame Ami, chef de laboratoire de toxicologie-pharmacologie à l'Agence Nationale des Produits Pharmaceutiques, pour son soutien précieux.

De plus, nous remercions Monsieur Kelai elyes, dont la contribution au sein de CRAPC a été d'une grande valeur pour notre travail. Votre implication et votre expertise ont été des atouts majeurs dans la réalisation de notre projet.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude envers Madame Guerroumi Houda, ingénieur de laboratoire LBCM2 à l'ENSSMAL, Votre disponibilité, votre patience et votre volonté de partager votre expertise ont facilité notre travail de manière significative. Nous avons eu la chance de collaborer avec vous, et cela a eu un impact positif sur notre projet. Nous tenons à témoigner toutes nos sincères reconnaissances aux personnes suivantes M. MATOUK Youcef, M. MEGARTSI Yacine, M. DJERRAI Nouredine, ainsi que, M. AIT KACI Malik, M. BENCHAAABANE Ahmed, et tout le personnel de l'ENSSMAL pour leur aide dans la réalisation de ce mémoire. Nous sommes honorés d'avoir eu l'opportunité de collaborer avec vous et de bénéficier de votre précieuse assistance. Vos efforts collectifs ont façonné la réussite de notre projet de fin d'études, et nous garderons précieusement le

souvenir de cette collaboration. Encore une fois, merci du fond du cœur pour avoir rendu tout cela possible.

Dédicace

Je dédie cet ouvrage

Al 'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect: mon premier amour cher père.

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse, mon adorable mère.

*À mes chers frères, qui sont toujours là pour moi, avec amour et soutien indéfectible. Vous êtes ma force et ma fierté. Avec tout mon amour, Anes, Haïtem et Mohamed
Ali.*

A ma famille ; mes tantes, mes oncles, mes cousines, ainsi qu'à tous mes proches qui illuminent ma vie de leur amour et de leur énergie Surtout Doua.

Mon ami, mon confident et ma source de joie et de bonheur, il a toujours été à mes côtés. Je remercie Dieu de l'avoir mis sur ma route, Malek.

A mes amies Aya, Nana, Houda, lyna, Malak, manar, Malak vous êtes pour moi des sœurs et des amies sur qui je peux compter. En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

Et à toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

À la mémoire de mon regretté père, dont la présence et la bienveillance continuent de m'inspirer chaque jour. Ce mémoire est dédié à l'homme qui a été bien plus qu'un père, un ami et un mentor. Bien que tu ne sois plus parmi nous depuis trois ans, ton héritage de sagesse, d'amour et de dévouement continue de briller à travers moi. Ton absence est ressentie profondément, mais ce travail est une célébration de ta vie et de l'impact durable que tu as eu sur moi. Tu resteras à jamais dans nos cœurs.

À ma merveilleuse famille : À ma mère, source infinie d'inspiration et de soutien, à Mehdi, mon frère, complice et pilier de ma vie, ainsi que à mes sœurs, Meryem, Riham et Rym. Votre amour et votre présence éclairent mes jours et sont les piliers de ce mémoire.

À mes amies exceptionnelles : À Nesrine, Nawel, Hana, Manar et Houda, vos amitiés précieuses ont ajouté des nuances enrichissantes à chaque chapitre de ma vie académique. Ce mémoire est un témoignage de gratitude envers chacune de vous, formant les pages d'une histoire où votre influence se fait sentir à chaque ligne. Merci de tout cœur pour votre soutien constant et votre amitié sincère.

Lyna Abir

Introduction	1
Chapitre I : Etude bibliographique	1
Partie A : Généralités sur les coproduits et les bioressources marine	3
I.1 Production et valorisation des coproduits de la pêche et de l'aquaculture.....	3
I.1.1 Notion de coproduits et de déchets	3
I.1.2 Les coproduits de la pêche et de l'aquaculture en Algérie	3
I.1.3 Les enjeux économiques des coproduits marins	4
I.1.4 Les bioressources marines et leurs exploitations biotechnologiques.....	5
I.1.4.1 Chitosane.....	5
I.1.4.1.1 Définition et structure chimique du chitosane.....	5
I.1.4.1.2 Propriétés du chitosane.....	5
I.1.4.1.2.1 Propriétés physico-chimiques.....	5
I.1.4.1.2.2 Le degré de désacetylation (DDA)	6
I.1.4.1.2.3 La viscosité	6
I.1.4.1.2.4 Masse moléculaire	7
I.1.4.1.2.5 Solubilité.....	7
I.1.4.1.2.6 Caractère acido-basique.....	7
I.1.4.1.2.7 Propriétés biologiques et pharmacologiques	8
I.1.4.2 Le collagène	8
I.1.4.2.1 Définition et structure du collagène	8
I.1.4.2.2 Propriétés biologiques du collagène marin	9
I.1.4.2.3 Propriétés pharmacologiques et utilisations du collagène marin	10
I.1.4.3 Carbonate de Calcium	11
I.1.4.3.1 Définition du CaCO_3	11
I.1.4.3.2 Sources marines de CaCO_3	11
I.1.4.3.3 Utilisation de CaCO_3	11
I.1.4.4 L'astaxanthine.....	12
I.1.4.5 sequalene	13
I.1.4.6 Les huile de poisson	14
Partie B : les médicaments et les compléments alimentaires	15
I.1.5 Les compléments alimentaires	15
I.1.5.1 Définition des compléments alimentaires	15
I.1.5.2 Forme des compléments alimentaires	16

I.1.5.2.1	Sous forme solide	16
I.1.5.2.2	Sous forme liquide	16
I.1.5.3	Processus de fabrication d'un complément alimentaire.....	17
I.1.5.4	Classification des compléments alimentaires.....	17
I.1.5.5	Différents catégories des compléments alimentaires (Cas) et leurs intérêts ..	18
I.1.5.5.1	Compléments alimentaires anti âges	18
I.1.5.5.2	Compléments alimentaires de musculation.....	18
I.1.5.5.3	Compléments alimentaires et arthrose :	18
I.1.5.6	Règlementation Algérienne des compléments alimentaires.....	19
I.1.5.7	Consommation et marché des compléments alimentaires.....	19
I.1.5.7.1	Consommateurs des compléments alimentaires.....	19
I.1.5.8	Marché des compléments alimentaires à travers le monde	20
I.1.5.9	Marché des compléments alimentaires en Algérie.....	20
I.1.6	Les médicaments.....	20
I.1.6.1	Définition des médicaments	20
I.1.6.2	Les formes galéniques des médicaments	21
I.1.6.2.1	Forme solide.....	22
I.1.6.2.1.1	Les comprimés.....	22
I.1.6.2.1.2	Les gélules	22
I.1.6.2.1.3	Forme liquide.....	22
I.1.6.2.1.4	Solution.....	22
I.1.6.2.1.5	Sirop.....	22
I.1.6.2.1.6	Suspension	22
I.1.6.2.1.7	Emulsions	22
I.1.6.2.1.7.1	Définition d'une émulsion	22
I.1.6.2.1.7.2	Compositions des émulsions	23
I.1.6.2.1.7.3	Type d'émulsions.....	24
I.1.6.2.1.7.3.1	Sens de l'émulsion	24
I.1.6.2.1.7.3.2	Taille d'émulsion.....	26
I.1.6.2.1.7.4	Les émulsions cosmétiques et pharmaceutiques.....	26
I.1.6.2.1.7.4.1	Les pommades.....	26
I.1.6.2.1.7.4.2	Les crèmes.....	27
I.1.6.2.1.7.4.3	Les gels.....	27
I.1.6.2.1.7.4.4	Les pâtes.....	27
I.1.6.2.1.7.4.5	Les laits	27

I.1.6.2.1.7.5	Formulation d'une émulsion	28
I.1.6.2.1.7.6	Préparation d'une pommade	29
I.1.6.2.1.7.7	Procédés d'émulsifications	29
I.1.7	Exemple d'application d'une émulsion contre le psoriasis.....	30
I.1.7.1	Définition de psoriasis.....	30
I.1.7.2	Facteurs étiologiques du psoriasis.....	32
I.1.7.2.1	Facteurs infectieux	32
I.1.7.2.2	Facteurs médicamenteux	32
I.1.7.2.3	Facteurs psychologiques	32
I.1.7.3	Les différentes formes	32
I.1.7.3.1	Le psoriasis en plaques.....	32
I.1.7.3.2	Le psoriasis de cuir chevelu	33
I.1.7.3.3	Le psoriasis de l'ongle.....	33
I.1.7.3.4	Le psoriasis en gouttes	33
I.1.7.4	Traitement du psoriasis	33
I.1.7.4.1	Traitements topiques :	33
I.1.7.4.2	Thérapie par la lumière (photothérapie).....	34
I.1.7.4.3	Médicaments systémiques.....	34
I.1.7.4.4	Biologiques.....	34
I.1.7.4.5	Traitements expérimentaux	34
Chapitre II	: Matériel et Méthodes.....	36
II.1	Matériel	35
II.1.1	Matériel biologique	35
II.1.2	Matériel non biologique	35
Partie A	: Extraction et caractérisation des biomolécules marines	37
II.2	Echantillonnage.....	37
II.2.1	Collecte de la matière première	37
II.2.2	Identification des espèces (crevette, huitre, nacre, espadon).....	37
II.2.3	Prétraitement des coproduits.....	37
II.2.3.1	Prétraitement de carapace de crevette	37
II.2.3.2	Prétraitement des coquilles des huitres et l'os de seiches	37
II.2.3.3	Prétraitement des peaux de poissons	38
II.3	Détermination de la composition biochimique globale des coproduits	38
II.3.1	Détermination de la teneur en l'eau	38
II.3.2	Détermination de la teneur et de la composition en matière minérale.....	39

II.3.3	Détermination de la teneur en protéine totales	39
II.3.4	Détermination de la teneur en lipides totaux	40
II.3.5	Composition minérale des coquilles des huitres et des os de seiches.....	41
II.3.5.1	L'analyse par XRF.....	41
II.3.5.2	Dosage de calcaire (calcimétrie).....	42
II.4	Extraction de la chitine et du chitosane.....	44
II.5	Caractérisation du chitosane produit.....	46
II.5.1	Rendement massique	46
II.5.2	Test de solubilité.....	46
II.5.3	Calcul du degré de déminéralisation.....	46
II.5.4	Calcul du degré de désacétylation.....	47
II.5.4.1	FTIR (spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier FTRI)	47
II.6	Extraction du collagène à partir des peaux de poissons.....	47
II.6.1	Méthode d'extraction du collagène.....	47
II.6.2	Mise en évidence du collagène extrait.....	49
II.6.2.1	Test du biuret.....	49
II.6.2.2	Test à la xanthoprotéine.....	49
II.6.3	Détermination du poids moléculaire du collagène marin par SDS-PAGE	50
II.6.3.1	Principe de l'électrophorèse SDS-PAGE	50
II.6.3.2	Protocole de l'électrophorèse	51
II.7	Extraction de l'huile à partir des têtes d'espadon	54
II.7.1	Méthode d'extraction de l'huile.....	54
II.7.2	Caractérisation de l'huile extraite	55
II.7.2.1	Test de tache	55
II.7.2.2	Rendement massique	55
II.7.2.3	Techniques d'analyses chromatographiques.....	55
II.7.2.3.1	Analyse par CCM des huiles de poisson.....	55
II.7.2.3.2	Analyse par CPG/SM des huiles de poisson.....	57
II.8	Extraction de squalène à partir de fois de requin.....	59
II.8.1	Méthode d'extraction d'huile.....	59
II.8.1.1	Extraction au chaud.....	59
II.8.2	Caractérisation du squalène produit.....	62
II.9	Protocole des activités biologiques	62
II.9.1	Activité anti-inflammatoire.....	62
II.9.2	Activités anti-oxydantes.....	64

II.9.2.1	Activité anti radicalaire au DPPH•	64
II.9.2.2	Activité du piégeage du cation radical ABTS•+	64
II.9.2.3	Activité du pouvoir réducteur (FRAP)	64
II.9.2.4	Activité de réduction par la formation du complexe Fe+2 – phénantroline.....	65
II.9.3	Activités enzymatiques	65
II.9.3.1	Activité antidiabétique.....	65
Partie B : Formulation et production		67
II.10	Formulation des compléments alimentaires	67
II.10.1	Compléments alimentaires format gélules	67
II.10.1.1	Formulation	67
II.10.1.2	Mode opératoire.....	68
II.10.2	Compléments alimentaires format comprimés	70
II.10.2.1	Formulation	70
II.10.2.2	Procédé opératoire	70
II.10.2.3	Contrôles de produits (pharmaco techniques) :	72
II.10.2.4	Tests d'activité (étude comparative avec la référence)	72
II.10.3	Formulation d'une émulsion contre le psoriasis	73
II.10.3.1	Etude de pré-formulation.....	73
II.10.3.2	Etude de formulation	73
II.10.3.3	Procédé de fabrication	73
II.10.3.4	Peser des principes actifs.....	73
II.10.3.5	Préparation des deux phases :	74
II.10.3.6	Préparation de la crème	74
II.10.4	Caractéristiques physico-chimiques de la crème	75
II.10.4.1	Aspect macroscopique	76
II.10.4.2	Aspect microscopique.....	76
II.10.4.3	Stabilité à la centrifugation.....	76
II.10.4.4	Homogénéité et distribution	76
II.10.4.5	Détermination du pH	77
II.11	Contrôle de qualité microbiologique des produits préparés.	77
II.11.1	Dénombrement des germes aérobies totaux et des levures et moisissures totales DGAT et DMLT	77
II.11.2	Recherche d' <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Salmonella</i>	78
II.12	Tests de toxicité DL50 des compléments alimentaires	78

II.12.1	Définition	78
II.12.2	Modes opératoires	79
II.13	Contrôle de qualité de la crème	80
II.13.1.1	Test de tolérance cutané	80
II.13.1.1.1	Méthodes.....	80
II.13.1.1.2	Détermination de l'indice d'irritation primaire cutanée	82
Chapitre III : Résultats et discussions		84
III.1	Identification des espèces.....	84
III.2	Détermination de la composition biochimique globale des coproduits	85
III.2.1	Composition biochimique globale des carapaces de crevettes	85
III.2.1.1	Taux d'humidité (Teneur en eau)	86
III.2.1.2	Teneur en matière minérale	86
III.2.1.3	Teneur en lipides	86
III.2.1.4	Teneur en protéines	86
III.2.2	Composition biochimique globale des coquilles des huitres et d' <i>Anomia ephippium</i> , l'os de seiche.....	88
III.2.2.1	Taux d'humidité (Teneur en eau)	88
III.2.2.2	Teneur en matière minérale	88
III.2.2.3	Teneur en lipides	88
III.2.3	Composition minérale des coproduits.....	90
III.2.3.1	L'analyse par XRF.....	90
III.2.3.2	Teneur en carbonates de calcium des carapaces de crevettes, des coquilles d'huitres, des pelures d'oignon et des os de seiche	91
III.3	Caractérisation du chitosane produit.	93
III.3.1	Rendement massique.	93
III.3.2	Solubilité.....	94
III.3.3	Degré de désacétylation.	95
III.3.3.1	Spectrophotométrie infrarouge (FTIR).....	95
III.4	Mise en évidence du collagène extrait.	96
III.4.1	Test du biuret.	96
III.4.2	Test xanthoprotéique.....	97
III.4.3	Rendement massique :	97
III.4.4	Poids moléculaire du collagène déterminé Par SDS-PAGE.....	98
III.5	Caractérisation de l'huile extraite	98
III.5.1	Rendement d'extraction de l'huile et test de tache.....	98

III.5.2	Screening des huiles de poisson par CCM.....	99
III.5.3	Détermination de la composition chimique globale de l'huile de tête d'espadon par CGSM.....	100
III.6	Caractérisation du squalène.....	101
III.6.1	Rendement d'extraction du squalène.....	101
III.7	Propriétés pharmacologiques des molécules extrait.....	101
III.7.1	Activités anti inflammatoires	102
III.7.2	Activités anti-oxydantes.....	102
III.7.2.1	Activité anti radicalaire au DPPH	102
III.7.2.2	Activité du piégeage du cation radical ABTS	103
III.7.2.3	Activité de réduction par la formation du complexe Fe ²⁺ phenanthroline	106
III.8	Résultats des tests pharmaco-techniques des comprimés élaborés	107
III.9	Caractéristiques physico-chimiques de la crème	108
III.10	Résultats du test de la tolérance cutanée de crème fabriqué.....	110
III.10.1	Résultat du test de tolérance cutanée de la crème	110
III.10.2	Détermination de l'indice d'irritation primaire cutanée	110
III.11	Résultats du DL50 des compléments alimentaires	111
III.12	Qualité microbiologique des produits fabriqués.....	112
Conclusion	114

Liste des abréviations

AGPI : Acide gras polyinsaturé ;

AMM : Autorisation de mise sur le marché ;

ANPP : Agence nationale des produits pharmaceutiques ; BSA : bovine
sérum albumine ;

CA : Compléments alimentaires ;

CE : Conformité Européenne ;

CoTA : co-tensioactif ;

DA : Degré d'acétylation ;

DDA : Degré de désacétylation ;

DEM : Dose minimale érythémateuse ;

DHA : Acide docosahexaénoïque ;

DM : Degré de déminéralisation ;

DP : Degré de déprotéinisation ;

ENSSMAL : Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la mer et de
l'Aménagement du Littoral ;

FTIR : Spectroscopie infrarouge à transformée de fourrier ;

H/E : Huile dans l'eau ;

O/W : oil in water

pH : Potentiel d'hydrogène ;

PCA : Plate count agar ; PEG : Polyéthylène glycol ;

PTA : Tensioactive ; UV : Ultraviolets

Liste des figures

Chapitre I : Etude bibliographique

Figure I -1 : la structure chimique de l'astaxanthine	132
Figure I -2 : la structure chimique de squalène	13
Figure I -3: Représentation schématique d'une émulsion.....	23
Figure I -4: Représentations schématiques d'une émulsion directe et inverse (en bleu l'eau, en jaune l'huile).	24
Figure I -5: Représentations schématiques de deux types d'émulsions simples	25
Figure I -6 : Représentations schématiques de deux types d'émulsions multiples	25
Figure I-7: diagramme générale de procédés de fabrication d'une émulsion (Dupasquier et al. 2018).	30
Figure I -8: Mécanisme de la formation des lésions psoriasiques.....	31

Chapitre II : Matériel et Méthodes:

Figure II -9 :diagramme générale de la calcimétrie.....	43
Figure II -10:Diagramme général de production du chitosane à partir des coproduits de crevettes	45
Figure II -11: Diagramme général d'extraction du collagène à partir des peaux de poissons	48
Figure II -12: schéma représentatif de la méthode CCM	56
Figure II -13: diagramme générale d'extraction de squalène au chaud	59
Figure II -14: diagramme d'extraction générale de squalène à l'aide d'un solvant.....	61
Figure II -15: protocole de l'activité anti-inflammatoire sur hématies	63
Figure II -16:diagramme représente l'etape de formulation des gélules.....	69
Figure II -17: étape de teste de matière première des comprimés	70
Figure II -18: diagramme de protocole formulation des comprimés.....	71
Figure II -19: les différents tests pharmaco technique des comprimés	72
Figure II -20:test de comparaison avec la référence des comprimés.....	72
Figure II -21 : etapes de préparation de la préparation de la pommade contre le psoriasis ..	744
Figure II -22 : étape préparation des rats	78
Figure II -23 : étape d'injection des rats	78

Figure II -24:étape de préparation des lapins pour le test de tolérance cutanée79
 Figure II -25:étape d’application de la crème sur les lapins.....20

Chapitre III : Résultats et discussions

Figure III.26 : Espèces de crevettes identifiées. *Aristeus antennatus* (A), *Parapenaeus longirostris*(B).....84
Figure III.27 : *Magallana gigas*.....85
Figure III.28 : *Anomia ephippium*.....85
Figure III.29 : Composition biochimique globale du mélange des coproduits de crevettes exprimée en pourcentage par rapport à la matière sèche (MS)..... 87
Figure III.30 : Composition biochimique globale des coquilles des huitres exprimée en pourcentage par rapport à la matière sèche (MS).....89
Figure III.31 : Composition biochimique globale de l’os de seiche exprimée en pourcentage par rapport à la matière sèche (MS).....89
Figure III.32 : Composition biochimique globale d’*Anomia ephippium* exprimée en pourcentage par rapport à la matière sèche (MS).....89
Figure III.33 : Composition en minéraux des carapaces de crevettes.....90
Figure III.34 : Composition en minéraux des coquilles des huitres.....90
Figure III.35 : Composition en minéraux de l’os de seiches.....91
Figure III.36 : Composition en minéraux des d’*Anomia ephippium*.....91
Figure III-37 : Teneurs en carbonates de calcium des coproduits issus de la pêche et de l’aquaculture « Cultmar ».....92
Figure III.38 : Pesée du chitosane produit à partir de 400 g des carapaces de crevettes.....94
Figure III.39 : Solubilisation du chitosane extrait de crevettes dans l’acide acétique.....94
Figure III.40 : Spectres FTIR du chitosane de crevettes produits.....95
Figure III.41 : Mise en évidence de la présence du collagène avec la méthode de biuret....97
Figure III. 42 : Résultat du test à la xanthoprotéine.....97

Figure III.43 : Profil électrophorétique du collagène extrait en présence de dodécyl sulfate de sodium. Piste 1: marqueurs de haut poids moléculaire ; piste 2 : collagène marin extrait (échantillon).

.....98
Figure III.44 : Résultats de tests de tache.....99

Figure III.45 : Chromatographie sur couche mince de l'huile des têtes d'espadon
De gauche à droite : AGPI de la série U3 commercial, huile de tête d'espadon.
.....99

Figure III.46: Pouvoir d'inhibition du radical DPPH• des échantillons (exprimé en%).....103

Figure III.47 : Pourcentage d'inhibition du radical du test ABTS des échantillons.....104

Figure III.48 : Valeurs des pourcentages d'inhibition du radical du test FRAP.....105

Figure III.49 : Valeurs des pourcentages d'inhibition du fer ferrique au test Phénanthroline.....106

Liste des tableaux :

Chapitre I : Etude bibliographique

Tableau I -1:les différents types de collagène marin(Ricard-Blum & Ruggiero, 2005)	9
Tableau I .2 : Différence entre un médicament et un complément alimentaire (Derbré 2010)	21
Tableau I .3 : Caractéristiques des différentes catégories d'émulsions (Danielsson & Lindman,1981).	26

Introduction

Introduction

L'augmentation significative de la population mondiale depuis le siècle dernier constitue la principale cause de la surexploitation des ressources marines à l'échelle mondiale, générant souvent des coproduits qui représentent, dans la plupart des cas, plus de 50 % de leur poids initial (FAO, 2022).

Parmi ces coproduits, on peut citer les restes d'animaux marins, comprenant notamment les têtes, les arêtes, les peaux, les carapaces, les branchies, les viscères, ainsi que divers autres organes non comestibles. Ces déchets sont particulièrement riches en biomolécules d'intérêt, telles que les protéines, les minéraux, les lipides, qui offrent la possibilité d'être transformés en une variété de produits, parmi lesquels le chitosane, le collagène, les huiles, les polysaccharides, les fertilisants, et bien d'autres encore. Les applications de ces ressources sont multiples, touchant des secteurs aussi variés que la médecine, la pharmacie, l'industrie agroalimentaire, chimique, et cosmétique (Randriamahatody, 2011).

La valorisation des coproduits marins ne se résume pas seulement à une opportunité d'augmenter la valeur ajoutée économique. Elle revêt également une dimension cruciale dans la réduction de l'impact environnemental. En effet, la question de la gestion durable de ces déchets de la mer est devenue essentielle, dans le but de minimiser leur potentiel de pollution et d'exploiter pleinement leur potentiel, tout en préservant nos précieuses ressources océaniques. (Arvanitoyannis & Aikaterini, 2008).

Cependant, L'exploration des écosystèmes marins a ouvert la voie à une convergence passionnante entre la biotechnologie marine et l'industrie pharmaceutique. Parallèlement, l'utilisation historique de médicaments marins est bien documentée en Chine et en Extrême-Orient, avec des exemples remontant à plus de 2 800 ans avant J.-C. Ces cultures ont utilisé des algues pour traiter diverses affections, tandis que les Japonais ont exploité une algue rouge appelée *kainiso* pour combattre les parasites. Ces découvertes ont conduit à la préparation de médicaments à base d'acide kainique. En dehors de ces régions asiatiques, l'utilisation traditionnelle d'organismes marins à des fins médicinales est moins courante (Petek, 2018a).

Ainsi les premières céphalosporines, des antibiotiques largement utilisés aujourd'hui, ont été découvertes en Italie en 1948 grâce à la culture du champignon microscopique *Cephalosporium acremonium* présent dans les sédiments lagunaires.

Dans les années 1950, les composés anticancéreux et antiviraux de la famille des arabinosides ont été inspirés par des substances isolées d'une éponge des Caraïbes, *Cryptotethya crypta* (Petek, 2018b).

La recherche pharmaceutique a intégré la biotechnologie, ce qui a favorisé la reprise et l'approfondissement des recherches pour répondre aux besoins spécifiques de l'industrie pharmaceutique, notamment à travers les compléments alimentaires d'origine marine. La biotechnologie permet l'extraction des biomolécules et des composés bioactifs utilisés dans ces compléments. Ces produits, tels que les acides gras oméga-3, les antioxydants et les minéraux, ont des applications dans la prévention et le traitement de diverses affections, tout en offrant un potentiel pour le développement de médicaments.

D'autre part, Le psoriasis est une affection cutanée chronique qui peut provoquer des plaques rouges, épaisses et squameuses sur la peau. Pour atténuer les symptômes du psoriasis, de nombreuses personnes se tournent vers des crèmes de soulagement spécialement formulées.

L'objectif de ce travail est la valorisation biotechnologique des coproduits marins en vue d'extraire une variété de biomolécules marines. Cette extraction vise à définir une gamme de produits, notamment des compléments alimentaires (minceur, fish oil, de reflux calme et collagène marin), qui présentent des propriétés pharmaceutiques. De plus, l'objectif est de développer une crème destinée à soulager les symptômes du psoriasis.

Pour prévenir cet objectif, ce manuscrit est structuré de la manière suivante :

- Le premier chapitre « Etude bibliographique », Comprend les généralités sur la production et la valorisation des coproduits de la pêche, en présentant globalement les bioressources marines et leurs exploitations, ainsi qu'un bref aperçu sur les compléments alimentaires et sur le psoriasis.
- Le deuxième chapitre « matériel et méthodes », décrit le processus de collecte et de prétraitement des matières premières, des divers équipements et outils employés, ainsi que des protocoles d'extraction et de caractérisation des biomolécules de grande valeur (le chitosane, le collagène, les huiles, le squalène , le carbonate de calcium et les pigments) provenant de crustacés, des peaux de poissons , des têtes, des viscères,

et du foie de requin. Ces biomolécules sont ensuite utilisées dans la création d'une gamme de produits pharmaceutiques.

- Le troisième chapitre « résultats et discussion », est consacré à l'interprétation des différents résultats obtenus.

Chapitre I : Etude bibliographique

Chapitre I : Etude bibliographique

Partie A : Généralités sur les coproduits et les bioressources marine

I.1 Production et valorisation des coproduits de la pêche et de l'aquaculture

I.1.1 Notion de coproduits et de déchets

De nombreux sous-produits sont générés tout au long d'une chaîne de production, de fabrication ou de transformation ; issues des produits alimentaires, agroalimentaire notamment les produits de la pêche et de l'aquaculture. Les coproduits de la mer appelés le 3^{ème} filet sont principalement ceux issus des captures accessoires, des rejets et des invendus.

Les coproduits représentent en moyenne 50% du poids de la matière première (Delannoy & Coquelle, 2017). Ils sont généralement les peaux, les têtes, les viscères, les carapaces et les coquilles. Ils bénéficient d'un même traitement hygiénique que la partie comestible.

Les coproduits étaient considérés comme des déchets. Actuellement, une valorisation organisée est désormais installée et met en valeur ces coproduits en rajoutant une importance fondamentale dans plusieurs domaines d'application. La valorisation des coproduits est donc une valorisation économique de produit et non pas une valorisation de déchets on terme de traitement de ce déchet.

Le terme « déchet » peut également être définie comme les « produits rejetés » ou « écartés » lors du traitement ou de la transformation des produits principaux et des sous-produits.(Suparno & Poernomi, 1992).

I.1.2 Les coproduits de la pêche et de l'aquaculture en Algérie

L'Algérie, dotée d'une vaste façade maritime en méditerranée, ainsi que de nombreux lacs et réservoirs intérieurs, jouit d'un potentiel considérable en matière de production aquatique. En conséquence, l'ensemble de la chaîne de valeur de la pêche et de l'aquaculture génère une diversité de coproduits, allant des sous-produits de la transformation des poissons aux déchets organiques issus de l'aquaculture.

La gestion efficace des coproduits de la pêche et de l'aquaculture en Algérie qui ne sont jusqu'à présent pas encore estimés en termes statistiques, revêt une grande importance à la fois d'un point de vue économique et environnemental.

La valorisation de ces coproduits peut contribuer à la création de nouvelles opportunités économiques, à la réduction des déchets, ainsi qu'à la préservation des écosystèmes marins et d'eau douce.

I.1.3 Les enjeux économiques des coproduits marins

Les coproduits de la pêche et de l'aquaculture jouent un rôle crucial dans le domaine de la biotechnologie marine, cependant ils entraînent des enjeux économiques significatives. Voici quelques-uns des enjeux économiques majeurs associés à ces coproduits dans ce contexte :

- **Gestion des ressources** : Un enjeu majeur réside dans la gestion durable des ressources marines pour garantir un approvisionnement continu en coproduits. Les surpêches ou la surexploitation peuvent menacer la disponibilité de ces matières premières pour la biotechnologie marine.
- **Coûts de traitement**: La collecte, le tri et le traitement des coproduits marins peuvent être coûteux. Les enjeux économiques incluent la réduction de ces coûts tout en maintenant des normes de qualité élevées.
- **Concurrence des usages** : Les coproduits de la pêche et de l'aquaculture peuvent être utilisés à diverses fins, de l'alimentation animale à la production d'engrais. L'enjeu économique réside dans la répartition optimale de ces ressources limitées entre différents secteurs.
- **Valeur ajoutée** : Maximiser la valeur ajoutée des coproduits est un défi économique. Comment transformer ces matériaux en produits à haute valeur ajoutée plutôt qu'en simples sous-produits peu valorisés.
- **Normes et réglementations** : Les enjeux économiques comprennent la conformité aux normes de sécurité alimentaire et environnementales, ainsi que la gestion des réglementations qui peuvent affecter la collecte et l'utilisation des coproduits.
- **Investissement en recherche et développement**: Pour exploiter pleinement les coproduits en biotechnologie marine, des investissements en recherche et développement sont nécessaires pour développer de nouvelles technologies et applications. Cela peut représenter un défi financier pour les entreprises.

- Marchés internationaux: Les entreprises doivent se confronter à la concurrence internationale dans le domaine de la biotechnologie marine, où différents pays rivalisent pour exploiter ces ressources et développer des marchés à l'échelle mondiale.

I.1.4 Les bioressources marines et leurs exploitations biotechnologiques

I.1.4.1 Chitosane

I.1.4.1.1 Définition et structure chimique du chitosane

Le terme "chitosane" fait référence à une famille de copolymères qui ne possèdent pas une seule structure chimique bien définie. Ces copolymères sont composés de N-acétyl D-glucosamine et de D-glucosamine dans des proportions variables (Felt, 1999).

Dans la nature, le chitosane est rare et se trouve uniquement dans les parois de certains champignons de la classe des Zygomycètes tels que *Rhizopus*, *Mucor*, etc (Juang & Shao, 2002) ainsi que dans certains insectes tels que les reines termites, où il se trouve dans la paroi abdominale (Seng, 1988).

Le chitosane est obtenu par désacétylation totale ou partielle de la chitine. On utilise le terme "chitosane" lorsque le degré de désacétylation (D.D) est supérieur à 60% (David & *al.*, 2004)

Le chitosane possède trois types de groupes fonctionnels réactifs : un groupement amine et deux groupements hydroxyles situés respectivement aux positions C2, C3 et C6 (Figure I.1). Grâce à ces groupements amines libres, le chitosane présente des propriétés très intéressantes. Par exemple, il est soluble dans les acides faibles et possède un fort potentiel en raison de son caractère polycationique, ce qui le distingue des autres polysaccharides et polymères naturels qui sont généralement anioniques (Djelad, 2011).

I.1.4.1.2 Propriétés du chitosane

I.1.4.1.2.1 Propriétés physico-chimiques

Le chitosane présente une grande stabilité en phase solide dans des conditions de pression atmosphérique normale et d'humidité comprise entre 10% et 14%. Il s'agit d'un matériau non poreux qui peut être physiquement modifié. En raison de sa structure chimique spécifique, le chitosane peut interagir avec certaines substances chimiques telles que les ions et les macromolécules. Son comportement unique est attribué aux caractéristiques suivantes :

- Caractère hydrophile : la présence de groupes hydroxyle dans l'unité glucose permet la formation de ponts et de liaisons hydrogènes, tant à l'interne qu'à l'externe de la molécule.
- Présence de groupes hydroxyles, acétamide et amines hautement réactifs.
- Structure flexible de la chaîne polymère, influencée par le pH et la température.

Le chitosane possède également un fort potentiel de rétention d'eau, de chélation d'ions, de complexation et d'adsorption de polymères ou de molécules (Taouint, 2016)

I.1.4.1.2.2 Le degré de désacétylation (DDA)

Après le processus de désacétylation, le chitosane devient riche en groupements amine hautement réactifs. Le degré de désacétylation est donc un paramètre important qui influence les propriétés physico-chimiques telles que la masse moléculaire, la viscosité, la solubilité, la charge globale, la réactivité, les propriétés mécaniques telles que l'élongation à la rupture, la résistance à la traction, ainsi que les propriétés barrières. Il joue également un rôle dans les propriétés biologiques du chitosane et détermine ses applications.

Le degré de désacétylation du chitosane peut varier de 56% à 99%, avec une moyenne de 80%, en fonction des espèces de crustacés utilisées et des méthodes d'extraction et de préparation (Ben Dhieb, 2014).

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

Le degré d'acétylation peut être déterminé par titration volumétrique ou par des méthodes spectroscopiques telles que l'infrarouge (IR), proposée pour la première fois par Moore et Roberts en 1980, ou l'ultraviolet (Taouint, 2016).

I.1.4.1.2.3 La viscosité

La viscosité et le degré de désacétylation (DA) du chitosane sont étroitement liés. En effet, à mesure que le polymère subit une désacétylation plus importante, le nombre de groupements amines libres augmente, ce qui rend le chitosane plus soluble et améliore sa viscosité (Taouint, 2016).

La viscosité du chitosane dépend de plusieurs facteurs :

- Concentration du polymère : la viscosité augmente avec la concentration du chitosane.
- Température : la viscosité diminue lorsque la température augmente.

- Poids moléculaire : la viscosité intrinsèque augmente avec l'augmentation du poids moléculaire du chitosane.
- pH : une viscosité plus élevée est observée à un pH plus bas.

Ainsi, ces différents facteurs influencent la viscosité du chitosane, et leur prise en compte est importante lors de la manipulation et de l'utilisation de ce polymère.

I.1.4.1.2.4 Masse moléculaire

La masse moléculaire du chitosane est considérée comme l'une des propriétés les plus importantes qui affectent les performances du polymère. La chromatographie par perméation de gel est la méthode la plus couramment utilisée pour déterminer la masse moléculaire du chitosane. Tout comme ses composants, la masse moléculaire du chitosane varie en fonction de la source de la matière première, ainsi que de la méthode de préparation et d'extraction. En général, des températures élevées, des bases fortes et des acides forts peuvent entraîner la dégradation du chitosane et réduire sa masse moléculaire (Taouint, 2016)

I.1.4.1.2.5 Solubilité

Le chitosane est pratiquement insoluble dans l'eau et les solutions alcalines, mais il est soluble dans une variété de solvants organiques, aqueux et légèrement acides. L'acide acétique dilué est l'acide organique le plus couramment utilisé pour préparer une solution de chitosane. En général, le chitosane se dissout complètement à un pH de 4 (Taouint, 2016)

I.1.4.1.2.6 Caractère acido-basique

Le chitosane est considéré comme une polyamine. La présence de la fonction amine primaire en position 2 du noyau glucopyranose lui confère des propriétés physico-chimiques remarquables. Ces propriétés dépendent fortement du pH du milieu et de la présence ou de l'absence de sel. En l'absence de sel, le pK_a de la fonction amine est de 6,5. Cela signifie que le chitosane devient un polycation en dessous de cette valeur de pK_a, le distinguant ainsi des autres polysaccharides qui sont généralement anioniques.

Les avantages du chitosane diffèrent de ceux de la plupart des polysaccharides. Il peut sélectivement se lier aux espèces anioniques, ce qui en fait un excellent agent de floculation et lui permet de former des complexes polyanion-polycation.

À un pH supérieur à 6,5, le chitosane précipite. Il perd ses charges positives et les doublets électroniques de l'azote deviennent libres. Ces doublets libres, ainsi que la présence de nombreux atomes d'oxygène dans le chitosane, lui confèrent d'excellentes capacités de complexation des métaux lourds. L'absence de groupements ionisables dans la chaîne

macromoléculaire confère de bonnes propriétés chélatantes aux polymères. Le chitosane se décompose sans fondre à partir de 185 °C (Taouint, 2016)

I.1.4.1.2.7 Propriétés biologiques et pharmacologiques

La biocompatibilité d'un polymère est d'une importance fondamentale pour son utilisation potentielle en thérapie. Elle est principalement caractérisée par trois propriétés : sa non-toxicité, sa cytocompatibilité et son hémocompatibilité. Le chitosane présente l'avantage de posséder également d'autres propriétés très intéressantes, telles que son activité bactériostatique et fongistatique (Peh & Sodhi, 2006)

En effet, le chitosane présente une activité antimicrobienne contre différents groupes de microorganismes tels que les bactéries, les virus, les champignons et les levures (Du & *al.*, 2009) En général, les moisissures et les levures sont les plus sensibles au chitosane, suivies des bactéries.

Le chitosane possède également des activités biologiques, notamment des activités anti-inflammatoires, antioxydantes (Ngo & *al.*, 2009) antitumorales (Wang et *al.*, 2008) immunomodulatrices (Lee & Choi, 1999), anti-ulcéreuses ainsi que des effets hypocholestérolémiants et anti-hypertensifs (Kim et *al.*, 2008). Le degré d'acétylation du chitosane joue un rôle crucial dans sa bioactivité.

Par conséquent, le chitosane trouve de nombreuses applications commerciales. Dans l'industrie alimentaire, il peut être utilisé comme bioadhésif et additif alimentaire. Il est également utilisé dans le traitement des eaux, l'agriculture, les produits cosmétiques, l'industrie pharmaceutique et la nutraceutique (Oulhiz, 2018).

I.1.4.2 Le collagène

I.1.4.2.1 Définition et structure du collagène

Le collagène est une protéine structurale présente principalement sous forme fibrillaire. Il fait partie de la matrice extracellulaire des organismes animaux et joue un rôle essentiel dans la résistance mécanique des tissus et le processus de cicatrisation.

Le collagène est la protéine la plus abondante chez les animaux et représente environ un quart de la masse protéique chez les mammifères. Il se trouve dans les os, le cartilage, l'interstitium pulmonaire, les muscles et les parois des vaisseaux sanguins. Il est sécrété par les cellules des tissus conjonctifs et a une masse moléculaire d'environ 300 kDa.

À l'état natif, le collagène est composé de trois chaînes polypeptidiques d'environ 1050 acides aminés qui s'associent en une structure en triple hélice. Ces chaînes polypeptidiques sont

appelées chaînes alpha (α_1 , α_2 et/ou α_3), et la triple hélice formée par le collagène est appelée chaîne gamma (γ).

Bien qu'il existe différents types de collagène, le collagène de type I est le plus abondant dans les organismes vertébrés. Il est composé de deux chaînes α_1 associées à une chaîne α_2 dans une triple hélice.

Il existe différents types. Ces derniers sont consignés dans le tableau suivant :

Tableau I -1:les différents types de collagène marin(Ricard-Blum & Ruggiero, 2005)

Type de collagène	Source	Caractéristiques
Collagène de type I	Peaux de poisson	Principal type de collagène marin, présent dans la plupart des tissus conjonctifs
Collagène de type II	Cartilage de poisson	Présent principalement dans le cartilage, notamment dans les articulations
Collagène de type III	Peaux de poisson	Souvent présent en association avec le collagène de type I, joue un rôle dans la régénération tissulaire
Collagène de type IV	Parois cellulaires de poissons	Essentiellement présent dans les membranes basales des tissus
Collagène de type V	Peaux de poisson	Présent en faible quantité, joue un rôle dans la régulation de la croissance cellulaire et la formation de la matrice extracellulaire

Il est important de noter que les caractéristiques spécifiques des différents types de collagène marin peuvent varier en fonction de la source et des méthodes d'extraction utilisées.

I.1.4.2.2 Propriétés biologiques du collagène marin

Le collagène marin présente diverses propriétés biologiques, notamment :

- Stimule le développement cellulaire et la régénération tissulaire : Le collagène marin favorise la croissance et la régénération des cellules, ce qui contribue à la cicatrisation des plaies et à la formation de nouveaux tissus.
- Pouvoir hémostatique : Le collagène marin peut aider à arrêter les saignements en favorisant la coagulation sanguine et en agissant comme un agent hémostatique.
- Très bonne biocompatibilité et biodégradabilité : Le collagène marin est bien toléré par l'organisme et se dégrade naturellement au fil du temps, ce qui en fait un matériau biocompatible et biodégradable.
- Support naturel conférant une meilleure biodisponibilité à de nombreux actifs : Le collagène marin peut être utilisé comme support pour la libération contrôlée d'actifs, ce qui permet une meilleure biodisponibilité et efficacité de ces substances.
- Capacité de rétention d'eau et propriétés filmogènes : Le collagène marin a la capacité de retenir l'eau, ce qui contribue à l'hydratation de la peau. Il peut également former un film protecteur à la surface de la peau, aidant ainsi à maintenir son hydratation et à protéger contre les agressions extérieures.

I.1.4.2.3 Propriétés pharmacologiques et utilisations du collagène marin

Le collagène marin trouve de nombreuses utilisations dans les domaines médicaux, cosmétiques et pharmaceutiques. Voici quelques-unes de ses principales utilisations :

- Produits de soins de la peau et cosmétiques : Le collagène marin est largement utilisé dans les produits cosmétiques pour ses propriétés hydratantes, raffermissantes et anti-âge. Il peut être présent dans les crèmes, les sérums, les masques et autres produits destinés à améliorer l'apparence et la santé de la peau.
- Compléments alimentaires : Les suppléments de collagène marin sont pris par voie orale pour soutenir la santé de la peau, des cheveux, des ongles et des articulations. Ils sont souvent utilisés comme soutien nutritionnel pour renforcer les tissus conjonctifs et favoriser la régénération cellulaire.
- Applications médicales : Le collagène marin peut être utilisé dans des domaines tels que la médecine régénérative, la chirurgie et la dermatologie pour la reconstruction tissulaire, la cicatrisation des plaies, la réparation osseuse, etc.
- Industrie pharmaceutique : Le collagène marin peut être utilisé comme excipient ou support pour la libération contrôlée de médicaments, améliorant ainsi leur efficacité et leur biodisponibilité.

Il est important de noter que les utilisations spécifiques du collagène marin peuvent varier en fonction des produits et des réglementations propres à chaque pays. Il est recommandé de consulter un professionnel de la santé ou de la cosmétologie pour des conseils adaptés à chaque situation.

I.1.4.3 Carbonate de Calcium

I.1.4.3.1 Définition du CaCO_3

Le carbonate de calcium (CaCO_3) est un composé chimique solide, blanc à incolore, qui se présente sous différentes formes cristallines, notamment la calcite et l'aragonite. C'est l'un des minéraux les plus abondants sur Terre et joue un rôle essentiel dans de nombreuses applications industrielles et environnementales.

I.1.4.3.2 Sources marines de CaCO_3

Les coquilles d'organismes marins tels que les huîtres, les moules, les escargots de mer et les coraux sont riches en carbonate de calcium. Ces coquilles sont composées principalement de calcite ou d'aragonite. Lorsque ces organismes meurent, leurs coquilles tombent au fond de la mer et peuvent s'accumuler au fil du temps.

- Coquilles de mollusques : Les mollusques marins, tels que les palourdes, les moules et les escargots de mer, ont des coquilles principalement composées de carbonate de calcium.
- Les os de seiche (ou Sepia) et les os de calamar sont également des sources marines de carbonate de calcium (CaCO_3)
- Coraux : Les coraux durs, tels que les coraux constructeurs de récifs, utilisent le carbonate de calcium pour former leurs squelettes coralliens. Les récifs coralliens sont des structures massives constituées en grande partie de CaCO_3 .
- Calcaire marin : Les formations géologiques sous-marines, telles que les roches calcaires, sont riches en carbonate de calcium. Ces formations se forment à partir de dépôts de sédiments marins riches en CaCO_3 .
- Le calcaire des algues marines
- Dissolution des minéraux marins : Le carbonate de calcium se trouve également dans l'eau de mer sous forme dissoute. Lorsque les minéraux calcaires se dissolvent dans l'eau de mer, ils contribuent aux niveaux de CaCO_3 dans l'océan.

I.1.4.3.3 Utilisation de CaCO_3

Le carbonate de calcium marin (CaCO_3 marin) est utilisé dans plusieurs applications dans les secteurs industriels, alimentaire et environnemental. Voici quelques-unes des utilisations courantes du CaCO_3 :

- Industrie alimentaire : Le CaCO_3 marin est utilisé comme additif alimentaire sous le nom d'E170. Il peut être utilisé comme régulateur de pH, agent anti-agglomérant, ou pour

augmenter la teneur en calcium des produits alimentaires. Il est notamment utilisé dans la production de produits de boulangerie, de céréales, de boissons et de produits laitiers.

- Industrie pharmaceutique : Il est utilisé comme source de calcium dans la fabrication de certains suppléments alimentaires et médicaments.
- Industrie cosmétique : Le carbonate de calcium marin est utilisé dans la formulation de certains produits cosmétiques, notamment les crèmes et les poudres pour le visage.
- Industrie chimique : Le carbonate de calcium est utilisé comme charge dans la fabrication de produits chimiques, de peintures, de plastiques et de caoutchouc.
- Industrie du papier : Il est utilisé comme charge dans la fabrication de papier et de carton pour améliorer la résistance et la blancheur du produit final.
- Traitement de l'eau : Le CaCO_3 marin peut être utilisé pour augmenter la dureté de l'eau, ce qui peut être nécessaire dans certains systèmes de traitement de l'eau pour éviter la corrosion des tuyaux et des équipements.
- Agriculture : Il peut être utilisé comme amendement calcaire pour ajuster le pH des sols acides et fournir du calcium aux plantes.
- Épuration des gaz d'échappement : Il est utilisé dans les systèmes de réduction des émissions de dioxyde de soufre (SO_2) des centrales électriques et des installations industrielles.
- Aquariophilie : Dans les aquariums marins, le CaCO_3 marin est souvent utilisé comme substrat pour les coraux et les invertébrés marins, car il contribue à maintenir la stabilité du pH et à fournir du calcium essentiel à la croissance des coraux.
- Construction et bâtiment : Il peut être utilisé comme charge dans la fabrication de matériaux de construction tels que le ciment et le mortier.

I.1.4.4 L'astaxanthine

L'astaxanthine ($\text{C}_{40}\text{H}_{52}\text{O}_4$) est un pigment liposoluble coloré qui appartient à la famille des xanthophylles et aux caroténoïdes oxygénés (CONG & ZHANG, 2019).

On le trouve dans diverses sources naturelles, notamment les coproduits de crustacés comme les crabes et les crevettes, ainsi que dans la chair de poissons de la famille des salmonidés. Cette molécule est également présente dans des sources telles que les micro-algues et les levures.

Sa structure chimique se compose de 13 doubles liaisons conjuguées alternées avec des liaisons simples, et elle possède des groupes hydroxyles à chaque extrémité de la molécule (figure I -1). La couleur de l'astaxanthine est attribuée à la chaîne étendue de doubles liaisons conjuguées au centre de la molécule.

Dans la nature, l'astaxanthine peut être liée à des acides gras ou à des protéines pour maintenir sa stabilité (LIU & *al.*, 2020)

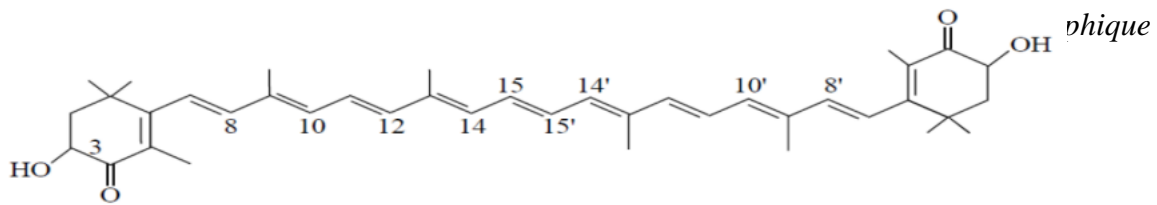


Figure I -1 : Structure chimique de l'astaxanthine (courchia,2020)

L'astaxanthine est présente dans les coproduits de crustacés à des concentrations allant de 50 à 200 mg/kg. Dans certaines espèces de crevettes péneïdes, elle constitue 63,5% à 92,2% des pigments caroténoïdes, sous forme native ou sous forme de mono et di-esters lipidiques.

L'extraction de l'astaxanthine peut être réalisée à l'aide de différentes techniques, parmi lesquelles :

- La fermentation, en particulier la fermentation lactique, qui est intéressante pour l'alimentation animale.
- L'hydrolyse enzymatique, qui s'avère efficace pour des applications dans l'alimentation humaine.
- L'extraction à l'aide d'huiles végétales, notamment l'huile de tournesol.
- L'utilisation de solvants organiques, tels que le mélange isopropanol/hexane, qui a montré son efficacité avec une récupération de l'astaxanthine atteignant 60% (RANDRIAMAHATODY, 2011).

I.1.4.5 squalène

Le squalène, découvert par le chimiste japonais Mitsumaru Tsujimoto en 1906, a longtemps été utilisé comme complément alimentaire, en particulier au Japon. En 1916, sa structure a été déterminée, et son nom a été inspiré par l'espèce de requin *Squalus acanthias*, qui en contient en grande quantité, soit environ 40 % en moyenne. Les variations existent, allant de 10 % pour le requin-peau bleue à 89 % pour la pristiure à bouche noire. Cette découverte a suscité un intérêt mondial pour le squalène, donnant lieu à de nombreuses études scientifiques.

Le squalène est un lipide largement répandu, présent dans tous les organismes supérieurs, et il a été présent dès le début de la vie sur terre dans les parois cellulaires des organismes complexes. Aujourd'hui, on le retrouve également dans le sébum humain, à hauteur d'environ 13 %. Sur le plan chimique, le squalène est un hydrocarbure linéaire insaturé de formule $C_{30}H_{50}$, composé de six unités isoprènes, toutes en conformation trans. Il peut également être désigné sous le nom de (E) 2,6,10,15,19,23-Hexaméthyl-2,6,10,14,18,22 tétracosahexène

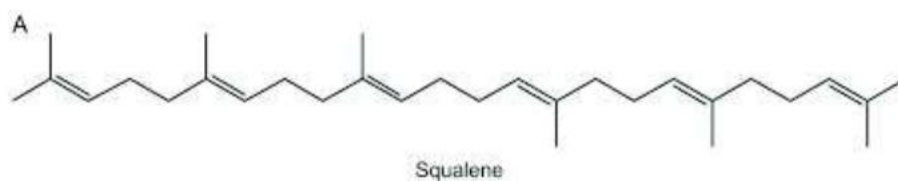


Figure I -2: Structure chimique de squalène

(figure I -2).

Le squalène occupe un rôle crucial dans la synthèse du cholestérol, des hormones stéroïdes et de la vitamine D chez les êtres humains (Kim & Karadeniz., 2012). On lui a également attribué plusieurs autres propriétés, notamment en tant qu'antioxydant, agent antitumoral, adjuvant vaccinal et cytoprotecteur. Bien qu'il soit utilisé en cosmétologie pour ses propriétés antioxydantes, le squalane, qui est son dérivé hydrogéné, est généralement préféré en raison de son action émollissante, de sa moindre toxicité et de sa meilleure stabilité (il est moins sensible à l'oxydation) (Chabrol, 2012).

I.1.4.6 Les huiles de poisson

Les huiles de poisson sont devenues un sujet d'intérêt majeur en raison de leur composition riche en biomolécules (DURMUŞ MUSTAFA 2019)

Elles sont produites à partir de différentes espèces de poissons, que ce soit l'ensemble du poisson ou ses coproduits (CX FO, 2013)

Les normes régissant les huiles de poisson relèvent des "normes codex pour les graisses et huiles comestibles", qui exigent que les produits d'origine animale proviennent d'animaux sains, abattus dans des conditions propres à la consommation humaine. Cela est également soutenu par les directives de la FAO, qui soulignent que l'état du poisson au moment de la transformation influence les propriétés physico-chimiques et nutritionnelles des huiles.

Les huiles de poisson sont des liquides riches en acides gras polyinsaturés à température ambiante. Elles ne présentent pas d'interactions chimiques spécifiques avec d'autres substances, et elles sont biodégradables, sans toxicité ni persistance environnementale selon plusieurs études et les normes en vigueur.

Ces caractéristiques font des huiles de poisson des produits de haute qualité, pouvant être utilisés dans divers domaines tels que l'alimentation, les compléments alimentaires, les produits cosmétiques, les produits pharmaceutiques, et bien d'autres encore.

Les huiles de poisson sont largement utilisées pour leurs propriétés pharmacologiques et leurs bienfaits pour la santé. Voici quelques-unes de leurs utilisations principales :

- Santé cardiovasculaire,
- Fonction cérébrale et santé mentale,

- Santé oculaire : Les acides gras oméga-3, en particulier le DHA, sont essentiels pour la santé des yeux,
- Bienfaits pour la peau : Les acides gras oméga-3 présents dans les huiles de poisson aident à maintenir une peau saine en favorisant l'hydratation, en réduisant l'inflammation cutanée et en soutenant la régénération cellulaire. Ils peuvent également aider à soulager les symptômes des affections cutanées telles que l'eczéma et le psoriasis.

Les huiles de poisson sont disponibles sous forme de compléments alimentaires, de capsules ou d'huiles liquides. Il est recommandé de consulter un professionnel de la santé avant de prendre des suppléments d'huile de poisson, en particulier en cas de conditions médicales préexistantes ou de prise d'autres médicaments(Encinas, 2020).

Partie B : les médicaments et les compléments alimentaires

I.1.5 Les compléments alimentaires

I.1.5.1 Définition des compléments alimentaires

La biodiversité marine regorge de composés uniques et potentiellement bénéfiques pour la santé humaine. Des organismes marins tels que les microorganismes, les algues, les éponges, les coraux et les mollusques peuvent produire une variété de molécules bioactives. Ces molécules peuvent présenter des propriétés antimicrobiennes, anticancéreuses, anti-inflammatoires et d'autres.

Un complément alimentaire se réfère à une substance consommée en plus du régime alimentaire habituel, qui vise à compléter les apports nutritionnels. Ces produits se caractérisent par leur concentration en nutriments et en autres composés ayant des effets nutritionnels ou physiologiques, que ce soit de manière indépendante ou en combinaison.

Selon le décret exécutif n 12-214 du Joumada Ethania 1433 correspondant au 15 mai 2012 fixant les conditions et les modalités d'utilisation des additifs alimentaires dans les denrées alimentaires destinées à la consommation humaine (JORAD, 2012).

« Les compléments alimentaires en vitamines et sels minéraux sont des sources concentrées de ces éléments nutritifs, seuls ou en combinaison, commercialisées sous forme de gélules, comprimés, poudre ou solution. Ils ne sont ingérés sous la forme de produits alimentaires habituels mais sont ingérés en petite quantité et dont l'objectif est de suppléer la carence du régime alimentaire habituel en vitamines et/ou en sels minéraux ».

Les premiers compléments alimentaires fournis étaient principalement des vitamines et des minéraux isolés. Au fil du temps, la gamme de compléments alimentaires s'est élargie pour inclure des antioxydants, des acides gras oméga-3, des probiotiques, des extraits de plantes et d'autres ingrédients actifs.

I.1.5.2 Forme des compléments alimentaires

I.1.5.2.1 Sous forme solide

- **Capsule** : Elle est souvent utilisée pour les plantes et les huiles (huile de foie de morue, huile de bourrache). La substance active se désagrège rapidement.
- **Comprimé** : Cette forme de complément alimentaire est très intéressante, car certains comprimés présentent des spécificités adaptées au mode de dispersion des substances actives: à avaler, à dissoudre dans de l'eau, à laisser fondre dans la bouche ou encore à croquer, sont les options proposées par ce type de complément alimentaire.
- **Capsule molle** : À l'image des gélules, elle permet de masquer un goût et une odeur désagréable pour le consommateur, la capsule est plus facile à avaler par rapport aux gélules grâce à la composition de l'enveloppe associant la gélatine.

I.1.5.2.2 Sous forme liquide

- **Ampoule buvable ou goutte (flacon doseur)** : C'est un contenant en verre qui renferme la substance active sous forme d'une solution liquide concentrée.
- **Goutte** : La forme goutte présentée dans un flacon doseur permet d'adapter la dose administrée à l'âge et/au poids.
- **Sirop** : Le sirop est une forme liquide épaisse, voire visqueuse, à base de glucose ou fructose glycérine et végétale.
- **Boissons** : A l'image des boissons énergisantes, les boissons multivitaminées ou les boissons minceur sont notamment une nouvelle tendance pour les jeunes consommateurs.

I.1.5.3 Processus de fabrication d'un complément alimentaire

Les étapes suivantes sont impliquées dans le processus de fabrication des compléments alimentaires, où des ingrédients sélectionnés sont soigneusement intégrés et présentés sous différentes formes galéniques telles que des comprimés, des gélules, des sirops, etc.

- Sélection rigoureuse des ingrédients : Cette première étape implique une sélection minutieuse des ingrédients, y compris des vitamines, des minéraux, des biomolécules et des substances innovantes. Chaque matière première est également soumise à un contrôle strict.
- Mélange et fabrication : Dans la deuxième étape, les différents ingrédients et biomolécules sont mélangés et transformés en différentes formes galéniques. Cette étape comprend également un contrôle de qualité intermédiaire du mélange.
- Mise sous emballage : Une fois le complément alimentaire préparé, il est emballé. Avant la commercialisation, un contrôle de qualité est effectué, et le produit est systématiquement mis sous quarantaine. Chaque complément alimentaire est doté d'un numéro de lot et d'une date limite de consommation pour assurer sa traçabilité.
- Déclaration et réglementation : Avant de pouvoir être commercialisé, une déclaration doit être faite auprès de la Direction Générale de la Concurrence de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DGCCRF). Le processus de fabrication est minutieusement réglementé, avec des contrôles de qualité à tous les niveaux.
- Mise sur le marché : Une fois que les allégations ont été approuvées, le complément alimentaire peut être mis sur le marché, prêt à être commercialisé. (Bennacer & Bouguenna, 2022).

I.1.5.4 Classification des compléments alimentaires

La classification des compléments alimentaires suscite des controverses, car elle varie d'un pays à l'autre. Certains pays les considèrent comme des produits alimentaires, tandis que d'autres les classent comme des médicaments.

De plus, il peut y avoir une confusion entre la classification des compléments alimentaires et celle des additifs alimentaires, qui sont classés selon différents critères tels que leur nature, leur classe et les effets attendus.

Pour tenir compte de toutes ces considérations, nous pouvons proposer une classification générale comme suit (Bennacer & Bouguenna, 2022):

- Nutriment médicaux ;

- Aliments nutritionnels à usage vétérinaire,
- Nourriture pour bébé,
- Compléments alimentaires.

I.1.5.5 Différents catégories des compléments alimentaires (Cas) et leurs intérêts

Il existe plusieurs compléments alimentaires parmi eux :

I.1.5.5.1 Compléments alimentaires anti âges

- **Vitamine E**

La vitamine E est la première ligne de défense contre la peroxydation des lipides. Elle est incorporée dans de nombreuses formulations topiques. Son efficacité dépend de sa pénétration, de son métabolisme, de sa biodisponibilité, de sa concentration et de son métabolisme.

La vitamine E réduit les rides et ridules causées par le photo-vieillessement. Excellente pour l'humidification de la peau, elle augmente sa douceur, sa souplesse, et elle provoque rarement des irritations cutanées ou des réactions allergiques (Gašperlin & Gosenca, 2011)

I.1.5.5.2 Compléments alimentaires de musculation

- **Branched Chain Amino Acids (BCAA)**

Les BCAA sont utilisés par les adeptes de la musculation pour leur effet anabolique musculaire. Ils sont communément utilisés après l'effort pour favoriser la récupération et l'anabolisme. Et aussi, par les sportifs en convalescence après une blessure, pour lutter contre la fonte musculaire.

Les BCAA sont des substrats énergétiques oxydatifs dans les muscles et comprennent trois acides aminés essentiels : la valine, la leucine et l'isoleucine. Ils sont recommandés pour les sportifs car ils sont une source d'énergie pour les muscles. De plus, la leucine stimule la synthèse des protéines au niveau musculaire (Deloy, 2017).

I.1.5.5.3 Compléments alimentaires et arthrose :

L'arthrose entraîne une destruction du cartilage caractérisée par une compression articulaire, une coagulation osseuse de la plaque osseuse sous-chondrale, la présence du cristallin dans des zones de haute pression et une réponse synoviale avec douleur et accumulation de liquide. Toutes les articulations peuvent être concernées. Cependant, les articulations des membres inférieurs sont souvent préférentiellement touchées.

Les substances présentes dans les compléments alimentaires sont destinées à soulager les douleurs liées à l'arthrose, mais aussi à améliorer la qualité de vie des patients. Ils préviennent la dégradation du cartilage. Le glucosamine est une substance produite par le corps qui agit pour maintenir le cartilage en bon état. Il aide à ralentir la progression de la maladie. Cependant, des questions subsistent quant à la dose optimale. Il est souvent associé au sulfate de chondroïtine.

Le sulfate de chondroïtine est un composant essentiel du cartilage, assurant sa structure et son élasticité. Il aide à ralentir la progression de l'arthrose. La prise concomitante de glucosamine peut renforcer cet effet préventif (Deloy, 2017).

I.1.5.6 Règlementation Algérienne des compléments alimentaires

Selon la réglementation algérienne : décret 12-124 relatif aux additifs alimentaires qui fixe l'additif comme toute substance qui n'est normalement ni consommée en tant que denrée alimentaire en soi, ni utilisée comme ingrédient caractéristique d'une denrée alimentaire; qui présente ou non une valeur nutritive ; dont l'adjonction intentionnelle a une denrée alimentaire dans un but technologique ou organoleptique a une étape quelconque de fabrication, de la transformation, de la préparation, du traitement, du conditionnement, de l'emballage, du transport ou de l'entreposage de cette denrée effectue ses caractéristique et devient elle-même ou ces dérivés, directement ou indirectement, un composant de cette denrée alimentaires sont des sources concentrées de ces éléments nutritifs, seuls ou en combinaison, commercialisées sous forme de gélules, comprimés, poudre ou solution. Ils ne sont pas ingérés sous la forme de produits alimentaires habituels mais sont ingérés en petite quantité et dont l'objectif est de suppléer la carence du régime alimentaire habituel en vitamines et/ou sels minéraux (JORAD, 2012).

I.1.5.7 Consommation et marché des compléments alimentaires

I.1.5.7.1 Consommateurs des compléments alimentaires

La majorité des Français (68 %) déclarent avoir consommé un produit de santé naturel et compléments alimentaires au cours des douze derniers mois, notamment des produits naturels tels que les vitamines (37 %), les produits de la ruche (34 %) et les huiles essentielles (32 %) (JDN, 2021). Il a été constaté que la consommation de produits nutritionnels destinés aux sportifs était de 38,3% (Deloy, 2017).

En Algérie, la consommation des compléments alimentaires augmentés considérablement depuis la pandémie du Covid 19. Les CA les plus consommés sont : la vitamine C (87,3%), le zinc (81,9%), contre 47,8% de vitamine C et 39,1% de magnésium avant la pandémie.

L'automédication était répandue pendant comme avant la pandémie 53,9% et 54,4% respectivement. (Benbouabdellah & al, 2023)

I.1.5.8 Marché des compléments alimentaires à travers le monde

La taille du marché mondial des compléments alimentaires était évaluée à 163,9 milliards de dollars en 2022 et devrait croître à un taux de croissance annuel composé (TCAC) de 9,0 % de 2023 à 2030. Autrement dit, le marché mondial devrait effleurer les 300 milliards de dollars en 2030.(GVR, 2021)

Le plus grand marché est l'Asie-Pacifique, il s'impose avec 91 milliards de dollars en 2021, soit plus de la moitié du marché mondial. De plus, il est désormais le marché avec la croissance la plus rapide avec un TCAC de 6,4 % de 2021 à 2028.(Insights10, 2022)

Pour ce qui est du marché européen des compléments alimentaires, il a atteint une valeur d'environ 17,99 milliards USD en 2021. Le marché devrait croître à un TCAC de 9,50 % au cours de la période de prévision 2023-2028 pour atteindre une valeur d'environ 31 milliards USD d'ici 2027.(Reportlinker, 2022).

I.1.5.9 Marché des compléments alimentaires en Algérie

Le marché mondial des compléments alimentaires connaît une croissance significative, et cela se reflète également en Algérie où il évolue sans aucune réglementation ni contrôle.

Bien que le ministère du Commerce les classe parmi les denrées alimentaires, les compléments alimentaires suscitent l'attention des spécialistes qui estiment qu'une réglementation est nécessaire. En effet, des discussions sont en cours pour établir un cadre réglementaire encadrant la commercialisation, la fabrication, l'étiquetage, et d'autres aspects liés aux compléments alimentaires. (Benbouabdellah & al.,2023)

I.1.6 Les médicaments

I.1.6.1 Définition des médicaments

Les médicaments sont des substances ou des compositions utilisées pour prévenir, diagnostiquer, traiter ou soulager les symptômes d'une maladie ou d'un trouble chez les humains ou les animaux. Ils peuvent être d'origine synthétique, naturelle ou biotechnologique et sont administrés par différentes voies, telles que l'ingestion, l'injection, l'application topique ou la respiration. (Tableau I.2)

Le tout premier médicament qui a été développé d'origine marin est apparu en 1959 par le Dr Charles M. Heidelberger et ses collègues au National Institutes of Health (NIH) aux États-Unis (Heidelberger & al. 1957). L'Ara-C, également connu sous le nom de cytarabine, est un médicament antinéoplasique utilisé dans le traitement de la leucémie aiguë et de certains

lymphomes. Il s'agit d'un analogue de la cytidine, une base nucléosidique, et il agit en inhibant la synthèse de l'ADN dans les cellules cancéreuses, perturbant ainsi leur division et leur croissance.

Tableau I .2 : Différence entre un médicament et un complément alimentaire (Derbré 2010)

	Médicament	Complément alimentaire
Objectifs	Soigner ou prévenir une maladie, une pathologie.	Entretenir le bien être.
Cibles	Personne malade ou susceptible de l'être.	Personne en bonne santé souhaite le soutien.
Propriétés	Thérapeutiques.	Notionnelles ou physiologique.
Mise sur le marché	Autorisation de la mise sur marché.	Déclaration à la direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des Fraudes

I.1.6.2 Les formes galéniques des médicaments

La pharmacie galénique est à la fois la science et l'art de préparer, conserver et présenter les médicaments. Le terme de « Galénique » est relatif à "Claude Galien", médecin grec qui est considéré comme le père de la pharmacie galénique. Il a séparé la pharmacie en tant que science à part, qui fonctionne en parallèle avec la médecine (Torche, 2021):

- 1850 - 1870 : Fondation du premier institut de pharmacologie (Allemagne) ;
- 1892 -1900 : Apparition des premiers médicaments officinaux (Aspirine 1892 par le laboratoire Bayer) et des premiers laboratoires pharmaceutiques ;
- 1920 - 1960 : Développement de l'industrie pharmaceutique.

Les formes galéniques sont tous les médicaments de la Pharmacopée actuelle. La pharmacie galénique offre à la pharmacopée des formes à chaque fois parmi les mieux adaptées à l'usage thérapeutique chez l'homme et l'animal. Les formes médicamenteuses utilisées en médecine humaine et vétérinaire sont dépendantes et définies par la voie d'administration; on appelle voie d'administration appropriée : toute voie choisie afin de permettre une absorption maximale du principe actif.

I.1.6.2.1 Forme solide

Il s'agit de plusieurs formes solides dont :

I.1.6.2.1.1 Les comprimés

Selon la pharmacopée européenne les comprimés sont des préparations solides contenant une unité de prise d'une ou plusieurs substances actives. Ils sont obtenus en agglomérant par compression un volume constant de particules ou par un autre procédé de fabrication approprié tel que l'extrusion, le moulage ou la cryodessiccation (lyophilisation). Les comprimés sont destinés à la voie orale. Certains sont avalés ou croqués, d'autres sont dissous ou désagregés dans de l'eau avant administration, certains, enfin, doivent séjourner dans la bouche pour y libérer la substance active.

I.1.6.2.1.2 Les gélules

Elle est constituée de deux enveloppes de gélatine emboîtées qui renferment une poudre. Elle doit toujours être avalée avec de l'eau car elle risque sinon de se coller dans l'œsophage. Certaines gélules peuvent être ouvertes et leur contenu dissout dans un peu d'eau ou de nourriture (yaourt ou compote par exemple) pour les personnes qui ont du mal à les avaler.

I.1.6.2.1.3 Forme liquide

Il s'agit plusieurs formes liquides des médicaments dont :

I.1.6.2.1.4 Solution

C'est un mélange de particules solubles dans un liquide, donne un mélange parfaitement homogène.

I.1.6.2.1.5 Sirop

C'est une préparation aqueuse de saveur sucrée (minimum 45%) et de consistance visqueuse.

I.1.6.2.1.6 Suspension

La Forme liquide résultant de la dispersion d'un ou plusieurs principes actifs solides dans une phase liquide

I.1.6.2.1.7 Emulsions

I.1.6.2.1.7.1 Définition d'une émulsion

« Les émulsions sont des préparations généralement liquides, destinées à être administrées telles quelles ou à être utilisées comme excipient. Elles sont constituées par la dispersion d'un liquide sous forme de globules dans un autre liquide non miscible »(Pharmacopée Française, 1987).

Une émulsion se définit comme la dispersion de deux phases liquides non miscibles. C'est un mélange de solutions lipophile et hydrophile se caractérisant par la présence de deux phases distinctes dont l'une est dispersée dans l'autre. On appelle phase dispersée ou phase discontinue, le liquide formant des gouttelettes, alors que l'on désigne le second fluide comme étant la phase dispersante ou la phase continue (Stig & al., 2017).

I.1.6.2.1.7.2 Compositions des émulsions

En règle générale, une émulsion se compose de deux phases distinctes : une phase aqueuse, également appelée phase hydrophile, et une phase huileuse, également appelée phase lipophile (figure I -3).

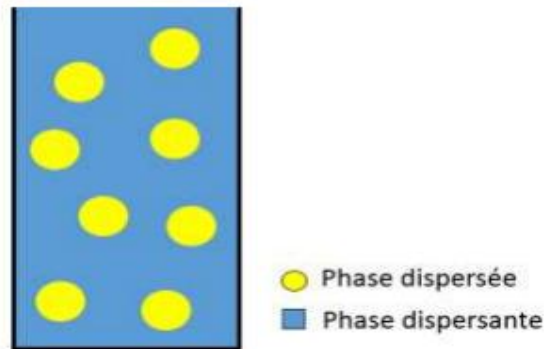


Figure I -3: Représentation schématique d'une émulsion (Djebbar, 2019)

Il convient également de noter l'existence d'autres dénominations courantes pour ces deux phases.

➤ Stade lipophile

La phase lipophile, qui est également connue sous les noms de phase grasse, phase huileuse ou phase organique, est également composée d'un mélange d'ingrédients provenant de diverses sources. Ces ingrédients peuvent inclure des huiles, des graisses et/ou des cires, qui se présentent respectivement sous forme liquide, semi-solide et solide à température ambiante. Il est également possible d'utiliser des substances synthétiques dans cette phase.

➤ Stade hydrophile

La phase hydrophile, également désignée sous le nom de phase aqueuse, est composée principalement d'eau et de composés solubles, connue sous le nom de composés hydrosolubles, qui se dissout dans cette phase. Selon le domaine d'application (alimentaire, cosmétique ou pharmaceutique) et le type d'émulsion, diverses substances peuvent être

ajoutées à la phase lipophile ou hydrophile afin de conférer différentes propriétés au produit final. La répartition de ces différents composants entre les deux phases dépend de leur solubilité spécifique.

I.1.6.2.1.7.3 Type d'émulsions

Selon le sens et la taille d'émulsion, on distingue plusieurs types émulsion.

I.1.6.2.1.7.3.1 Sens de l'émulsion

On classe les émulsions en deux catégories en fonction de la distribution des phases associées. Une émulsion est qualifiée de "directe" (représentée par H/E, pour Huile dans Eau) lorsque la phase dispersante est hydrophile et que la phase dispersée est lipophile. En revanche, une "émulsion inverse" (représentée par E/H, pour Eau dans Huile) se caractérise par une phase dispersante lipophile et une phase dispersée hydrophile (figure I -4). (Doumeix, 2011).

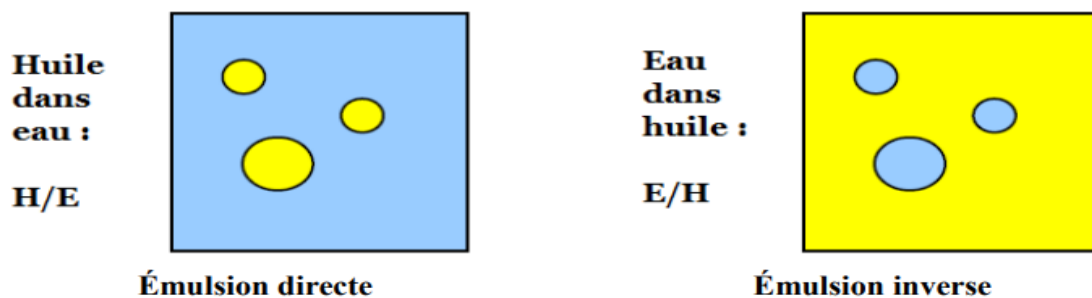


Figure I -4: Représentations schématiques d'une émulsion directe et inverse (en bleu l'eau, en jaune l'huile).

Une émulsion est étiquetée comme « simple » lorsqu'elle est constituée exclusivement de deux phases. En revanche, si le mélange se décompose en plusieurs phases imbriquées les unes dans les autres, il est qualifié de « multiple » ou est désigné sous le nom « d'émulsion complexe ». Cette dernière est caractérisée par une première émulsion renfermant des gouttelettes formées elles-mêmes à partir d'une émulsion.

- Emulsion simple

Les émulsions simples sont composées de deux phases, une phase hydrophile et l'autre phase lipophile plus un émulsifiant. En fonction de la distribution de l'huile et la phase aqueuse, les émulsions simples sont regroupées en deux types (figure I -5). (Tatar & al., 2017).

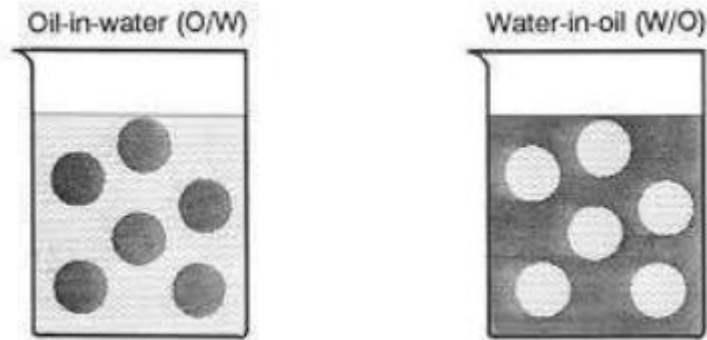


Figure I -5: Représentations schématiques de deux types d'émulsions simples

- Emulsion multiple

Les émulsions multiples sont des systèmes complexes et peuvent être décrites comme étant des émulsions incorporées dans d'autres émulsions. Les deux principaux types d'émulsions multiples sont les émulsions doubles eau-dans-huile-dans-eau (E/H/E) et huile dans-eau-dans-huile (H/E/H)(figure I -6) (Tatar & *al.*, 2017)

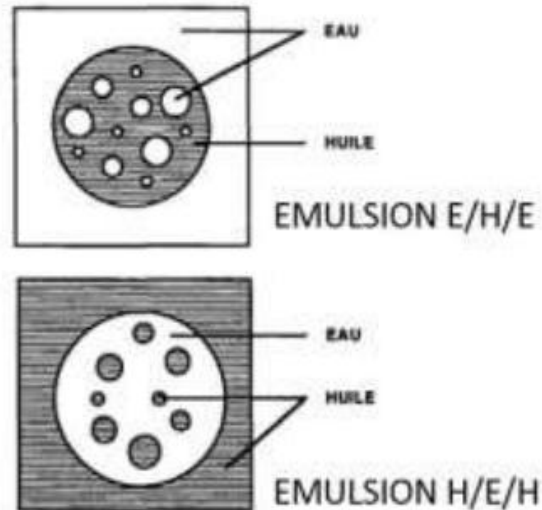


Figure I -6 : Représentations schématiques de deux types d'émulsions multiples

I.1.6.2.1.7.3.2 Taille d'émulsion

Trois principales catégories d'émulsions se distinguent en fonction de la taille des gouttelettes dans la phase dispersée : microémulsions, nano-émulsions et macro-émulsions, classées par ordre croissant de taille. Chaque type d'émulsion possède des caractéristiques distinctes.(Danielsson & Lindman,1981). (**Tableau I.3**)

Les caractéristiques de différentes catégories sont mentionnées dans le tableau suivant :

Tableau I .3 : Caractéristiques des différentes catégories d'émulsions (Danielsson & Lindman,1981).

Propriétés :	Macro-émulsion	Nano-émulsion	Micro-émulsion
Apparence	Opaque	Transparente ou légèrement turbide	Transparente ou légèrement turbide
Stabilité	Thermodynamiquement stable	Thermodynamiquement instable mais cinétiquement stable	Thermodynamiquement stable
Durée de vie	Courte	Courte	Longue
Taille gouttelettes	Supérieur à 1µm	Entre 50 et 200 nm	Entre 10 et 100 nm
Energie nécessaire	Méthode à forte ou faible énergie	Méthode à forte ou faible énergie	Méthode à faible énergie (formation spontanée)
Coût de formation	Peu important	Important	Peu important
Pourcentage de tension actif	Inférieur à 5%	Entre 5 et 10 %	Supérieur à 10%

I.1.6.2.1.7.4 Les émulsions cosmétiques et pharmaceutiques

I.1.6.2.1.7.4.1 Les pommades

Selon la pharmacopée européenne : « Les pommades se composent d'un excipient monophasé dans lequel peuvent être dispersés des liquides ou des solides. »(Pharmacopée Française, 1987) .

On distingue trois types de pommade :

- les pommades hydrophobes ne peuvent absorber que de petites quantités d'eau.
- Des pommades peuvent absorber des quantités plus importantes d'eau et conduire par conséquent à l'obtention d'émulsions eau-dans-huile ou huile-dans-eau selon la nature des agents émulsifiants.
- Les pommades hydrophiles sont des préparations dont l'excipient est miscible à l'eau.

I.1.6.2.1.7.4.2 Les crèmes

Selon la pharmacopée européenne : « Les crèmes sont des préparations multi-phases composées d'une phase lipophile et d'une phase aqueuse ». On distingue deux types des crèmes :

- Dans les crèmes lipophiles, la phase externe est la phase lipophile. Ces préparations contiennent des agents émulsifiants eau-dans-huile.
- Dans les crèmes hydrophiles, la phase externe est la phase aqueuse. Ces préparations contiennent des agents émulsifiants huile dans l'eau.

I.1.6.2.1.7.4.3 Les gels

Selon la pharmacopée européenne : « Les gels sont constitués de liquides gélifiés à l'aide d'agents gélifiants appropriés ». On distingue deux types des gels :

- Les gels lipophiles (oléogels) sont des préparations dont l'excipient est habituellement de la paraffine liquide additionnée de polyéthylène, ou des huiles grasses gélifiées par de la silice colloïdale ou des savons d'aluminium ou de zinc.
- Les gels hydrophiles (hydrogels) sont des préparations dont l'excipient est habituellement de l'eau, du glycérol ou du propylèneglycol gélifiés à l'aide d'agents gélifiants appropriés tels que l'amidon, des dérivés de la cellulose, des carbomères ou des silicates de magnésium-aluminium.

I.1.6.2.1.7.4.4 Les pâtes

Selon la pharmacopée européenne : « es pâtes sont des préparations semi-solides pour application cutanée contenant de fortes proportions de poudres finement dispersées dans l'excipient ».

On distingue deux types des pâtes :

- Pâte lipophile ou hydrophobe : excipient = corps gras ou mélange de corps gras.
- Pâte hydrophile : excipient à base d'eau + excipient miscible à l'eau.

I.1.6.2.1.7.4.5 Les laits

Ces substances sont des émulsions aqueuses prédominantes, enrichies en divers nutriments, dont les lipides (environ 3,5 % pour le lait entier), qui se manifestent sous la configuration de microgouttelettes lipidiques en suspension dans le milieu aqueux.

Toutefois, cette émulsion présente une instabilité intéressante. Après un certain laps de temps, une séparation de phases se produit : les globules lipidiques se rapprochent et

s'agglomèrent, tout en remontant vers la surface en raison de leur moindre densité par rapport à l'eau.

I.1.6.2.1.7.5 Formulation d'une émulsion

Selon leurs différentes formes (crème, pommade, émulsion...), les produits semi-solides ont une composition à peu près identique :

➤ Principe actif

C'est une substance qui détermine l'activité spécifique de la préparation. Il peut s'agir d'huiles animales ou végétales, des extraits de plantes ou autres, ajoutés à faible dose.

➤ L'excipient

Il s'agit d'une substance ayant pour fonction de véhiculer les principes actifs qu'elle contient, agissant ainsi sur les cellules pour produire des effets thérapeutiques. Cette substance est présentée sous diverses formes galéniques telles que comprimés, sirops, aérosols, injections, pommades, etc. Il convient de noter que le volume de l'excipient est toujours nettement supérieur à celui du principe actif.

Les pommades sont constituées d'excipients qui peuvent être des substances de sources naturelles ou synthétiques. Il est constitué de systèmes monophasés ou multiphasés, selon leur nature, les formulations peuvent être hydrophiles ou lipophiles.

L'excipient idéal doit répondre à de nombreux critères : il doit être facile à appliquer et à éliminer, non toxique, non irritant, non allergène, chimiquement stable et homogène.

➤ Tensioactif

En chimie le tensioactif est une molécule amphiphile, c'est-à-dire qu'il a à la fois une partie hydrophile polaire et une autre partie hydrophobe non polaire, donc il possède une double affinité avec les phases hydrophile et non hydrophile. Il est placé à l'interface de ces deux phases et permet de ce fait la chute de la tension inter-faciale. Ainsi, cela permet de dissoudre les deux phases initialement non miscibles.

Dans le contexte des émulsions, le composé tensioactif utilisé est désigné sous le nom d'émulsifiant ou d'émulsionnant. Cet élément présente une affinité à la fois pour la phase hydrophile (aqueuse) et la phase lipophile (grasse).

Les tensioactifs jouent un rôle fondamental dans les émulsions, car c'est grâce à eux, en particulier la tension interfaciale, que la formation de l'émulsion est rendue possible. Lors de la préparation d'une émulsion, une étape d'agitation permet aux tensioactifs de favoriser la dispersion d'une phase dans l'autre, sous forme de gouttelettes. Ils contribuent également à la stabilité relative d'une émulsion au fil du temps en entravant la coalescence des gouttes.

En fonction du type d'émulsion, l'orientation des tensioactifs ne sera pas la même. En effet, dans le cas d'une émulsion Huile dans l'eau, la tête hydrophile est placée à l'extérieur des gouttelettes et inversement dans le cas d'une émulsion Eau dans l'huile (Doumeix, 2011)

I.1.6.2.1.7.6 Préparation d'une pommade

Selon la définition de la Pharmacopée, utiliser des préparations semi-solides à usage cutané doit être uniforme. Il faut donc préparer un produit crémeux et homogène facilement applicable, pour cela les composants solubles et insolubles sont mélangés jusqu'à ce qu'ils soient complètement dispersés et invisibles.

La préparation s'effectue en deux étapes :

- Le mélange des excipients pâteux est généralement réalisé après la liquéfaction de ces derniers. Il commence soit par l'excipient ayant le point de fusion le plus élevé, soit dans l'ordre des quantités croissantes.
- L'addition des principes actifs solides ou liquides qui s'effectue en fonction :
 - ✓ De la solubilité du principe actif dans les excipients utilisés.
 - ✓ De l'insolubilité du principe actif : s'il est liquide, on pourra l'émulsionner et s'il est solide, on le dispersera dans une suspension après l'avoir réduit en poudres fines et tamisé pour éviter tout effet abrasif.

I.1.6.2.1.7.7 Procédés d'émulsifications

Le processus de sélection du procédé d'émulsification revêt une grande importance. En effet, en ajustant divers paramètres du procédé, il est possible d'obtenir différents types d'émulsions (telles que les émulsions simples E/H, H/E, ou multiples) à partir d'une formulation identique (figure I -7). Les variables de processus susceptibles de changer sont :

- L'ordre dans lequel les ingrédients sont ajoutés.
- La température.
- La vitesse et durée d'agitation, ainsi que la géométrie du mélange.

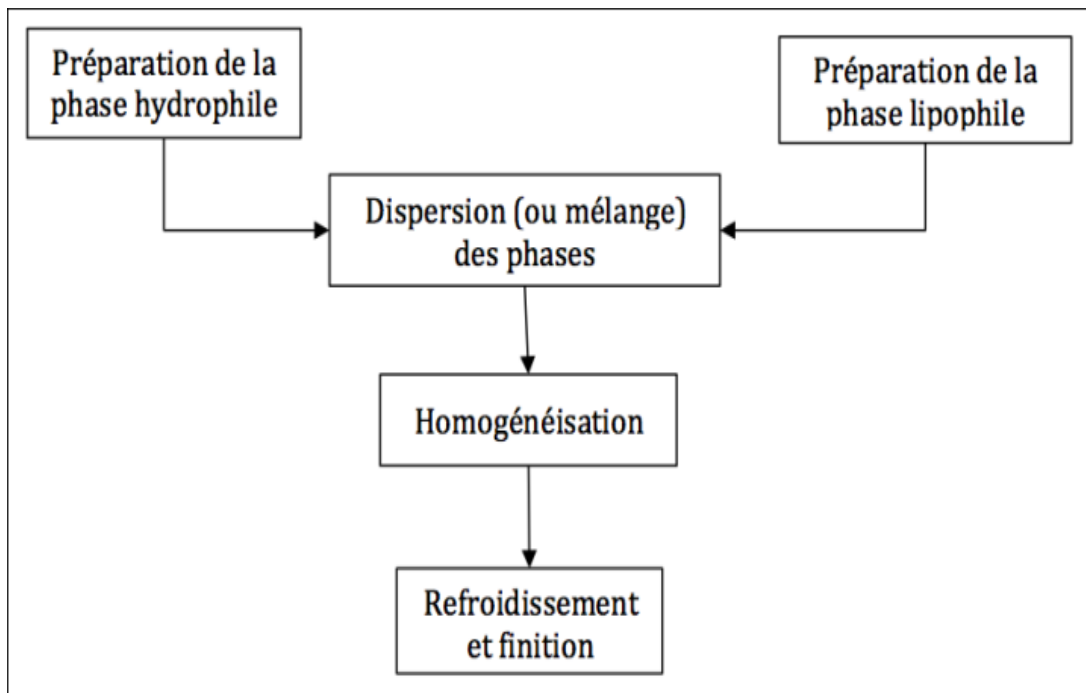


Figure I .7: Diagramme général de fabrication d'une émulsion (Dupasquier & *al.*, 2018).

I.1.7 Exemple d'application d'une émulsion contre le psoriasis

I.1.7.1 Définition de psoriasis

Le psoriasis se définit comme une dermatose inflammatoire chronique de l'adulte dont la conséquence est une prolifération accrue et une différenciation anormale des cellules épidermiques. Les mécanismes pathogéniques du psoriasis sont imparfaitement connus. Autrefois on parlait de l'idée d'une pathogenèse hyperproliférative exclusivement épithéliale avec une accélération du renouvellement cellulaire et une différenciation cellulaire incomplète. Aujourd'hui, on considère le psoriasis comme une maladie inflammatoire cutanée secondaire au recrutement et à l'activation anormale et aberrante des cellules de l'immunité cutanée d'individus génétiquement prédisposés. La nature exacte des éléments, susceptibles d'initier ce processus, n'est pas encore totalement connue. A chaque phase clinique du psoriasis (début de la plaque, extension de la plaque et persistance de la plaque) correspondent des réponses immunologiques spécifiques : des événements précurseurs et/ou déclencheurs de l'inflammation, des événements amplificateurs et des événements liés à des défauts de régulation. Tous ces événements sont régulés par des cellules de l'immunité cellulaire et par des cytokines.

Le modèle actuellement retenu pour la physiopathologie du psoriasis montre que, sous l'influence d'un stimulus (facteurs environnementaux), l'activation des cellules dendritiques et des lymphocytes T provoque la formation d'une « synapse immunologique » qui favorise leurs interactions. Il en résulte une libération de cytokines, de chimiokines et de facteurs de croissance, déclenchant à la fois la prolifération et la différenciation anormale de cellule killer, mais aussi l'angiogenèse (processus de croissance de nouveaux vaisseaux sanguins (néovascularisation) à partir de vaisseaux préexistants) qui est le reflet de l'inflammation chronique sous-jacente (figure I .8). Un cercle vicieux continu d'activation des LT, des DC et des Kc s'établit alors, le fonctionnement de ces cellules pouvant être modulé par les gènes de susceptibilité à la maladie.(Évrard, 2016)

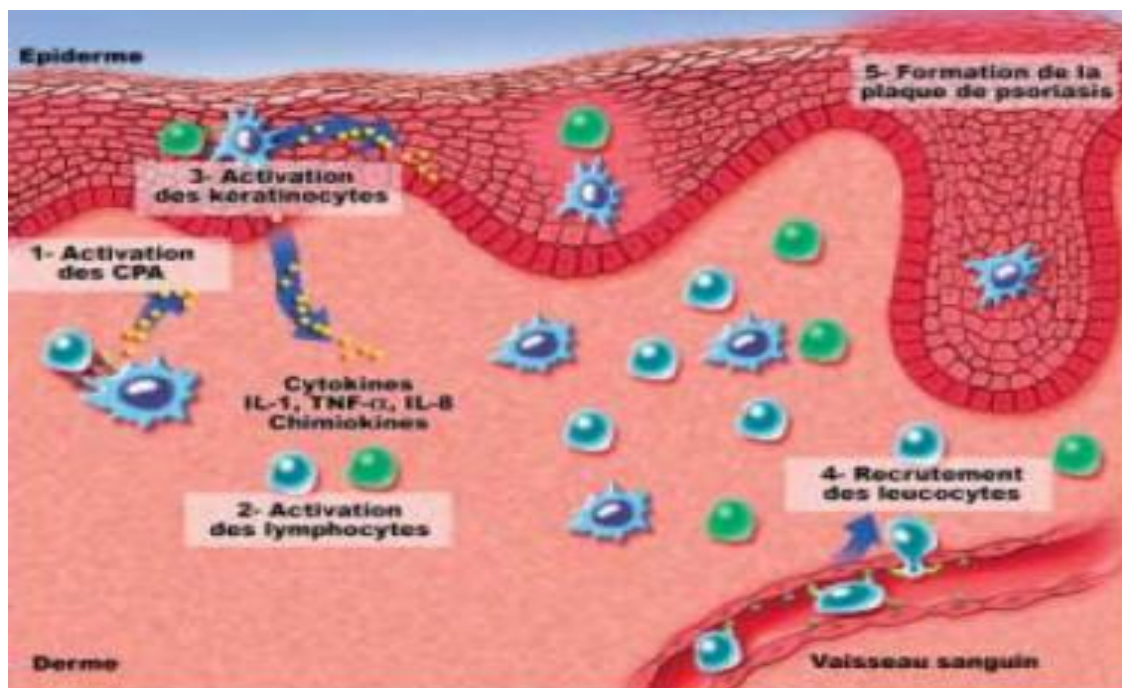


Figure I .8: Mécanisme de la formation des lésions psoriasiques(Évrard, 2016)

I.1.7.2 Facteurs étiologiques du psoriasis

La maladie du psoriasis dépend de plusieurs facteurs, essentiellement :

I.1.7.2.1 Facteurs infectieux

Une infection ou un dysfonctionnement du système immunitaire peuvent être liés à l'apparition du psoriasis. Chez les enfants en particulier, certaines infections ORL peuvent déclencher cette affection cutanée.

Effectivement, certaines variétés de psoriasis, telles que le psoriasis en gouttes, peuvent se déclencher à la suite d'infections rhinopharyngées, en particulier chez les enfants. Les infections à streptocoques, notamment les angines, sont particulièrement associées à ce phénomène. De plus, ces épisodes infectieux peuvent également aggraver des cas de psoriasis déjà existants.

I.1.7.2.2 Facteurs médicamenteux

Certains médicaments peuvent induire ou aggraver le psoriasis. Ils comprennent :

- Les sels de lithium, utilisé pour les traitements des troubles bipolaires.
- Les bêtabloquants, utilisés pour le traitement de l'hypertension.
- Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, pour le traitement de l'hypertension également.
- L'interféron alpha, utilisé dans le traitement de la sclérose en plaque ou l'hépatite C.
- Les antipaludéens de synthèse pour prévenir ou traiter le paludisme.
- L'arrêt brutal d'un traitement anti-inflammatoire à base de dérivés de la cortisone peut aussi aggraver un psoriasis.

I.1.7.2.3 Facteurs psychologiques

Les chocs psychoaffectifs et les stress émotionnels jouent un rôle significatif dans le déclenchement de la maladie ainsi que dans l'apparition des poussées du psoriasis. Ils ont la capacité d'amorcer un nouveau cas de psoriasis ou d'aggraver une condition préexistante. Les épisodes de poussée peuvent être déclenchés par des événements tels qu'un décès, une rupture, ou des difficultés professionnelles.

Les stress psychologiques agiraient par l'intermédiaire d'une sécrétion accrue de neuromédiateurs et d'hormones surrénaliennes.

I.1.7.3 Les différentes formes

Les formes de psoriasis les plus connus :

I.1.7.3.1 Le psoriasis en plaques

Le psoriasis est la forme de psoriasis la plus fréquente, qui représente 80% à 90% des cas.

Il se traduit par des plaques rouges épaisses, couvertes de squames blanches, qui peuvent être irritantes et douloureuses.

En cas de psoriasis sévère, la peau autour des articulations peut aller jusqu'à se déchirer et saigner.

I.1.7.3.2 Le psoriasis de cuir chevelu

Le psoriasis du cuir chevelu fait partie des localisations particulières du psoriasis en plaques. Lorsque le cuir chevelu est touché, il peut être pour certains plus irritant.

I.1.7.3.3 Le psoriasis de l'ongle

Le psoriasis des ongles fait partie des localisations particulières du psoriasis cutané. Il est rarement isolé et accompagne souvent un psoriasis en plaque.

Environ 50% des personnes atteintes le psoriasis ont également un psoriasis de l'ongle. Cela peut décolorer les ongles, les stries et les bosseler.

I.1.7.3.4 Le psoriasis en gouttes

Le psoriasis en gouttes est caractérisé par très petites plaques qui apparaissent sur la surface de la peau, comme des gouttes d'eau. Leur apparition est vraiment brutale, cette forme de psoriasis se déclenche souvent juste après une maladie telle que le rhume ou une angine.

I.1.7.4 Traitement du psoriasis

Les traitements du psoriasis visent généralement à réduire l'inflammation, à ralentir la croissance cellulaire excessive de la peau et à soulager les symptômes. Voici quelques-unes des principales options de traitement :

I.1.7.4.1 Traitements topiques :

- **Corticoïdes topiques** : Les corticoïdes sont des anti-inflammatoires stéroïdiens. Les crèmes ou les onguents à base de corticoïdes sont couramment utilisés pour réduire l'inflammation et les démangeaisons. Cependant, leur utilisation prolongée peut avoir des effets secondaires.
- **Analogues de la vitamine D** : Ces médicaments, tels que la calcipotriène, aident à normaliser la croissance cellulaire de la peau.
- **Analogues du rétinoïde** : Les analogues du rétinoïde, comme le tazarotène, sont utilisés pour ralentir la croissance cellulaire excessive de la peau.
- **Produits à base de goudron** : Les produits à base de goudron, tels que les shampoings ou les crèmes, peuvent réduire les démangeaisons et l'inflammation. (Évrard, 2016).

I.1.7.4.2 Thérapie par la lumière (photothérapie)

La photothérapie implique l'exposition de la peau aux rayons ultraviolets A (UVA) ou B (UVB) sous surveillance médicale. Elle peut réduire l'inflammation et ralentir la croissance cellulaire.

I.1.7.4.3 Médicaments systémiques

- Méthotrexate : Un immunosuppresseur qui peut être prescrit pour les cas graves de psoriasis. Il modifie la réponse immunitaire du corps.
- Ciclosporine : Un autre immunosuppresseur qui peut être utilisé pour contrôler le psoriasis sévère. Elle agit en réduisant l'activité du système immunitaire.
- Acitrétine : Un rétinoïde oral qui peut être prescrit en cas de psoriasis pustuleux.

I.1.7.4.4 Biologiques

Les médicaments biologiques, tels que les anticorps monoclonaux, ciblent des protéines spécifiques impliquées dans l'inflammation. Ils sont souvent utilisés lorsque d'autres traitements n'ont pas été efficaces.(Évrard, 2016)

I.1.7.4.5 Traitements expérimentaux

La recherche sur le psoriasis est en cours, et de nouvelles thérapies émergentes régulièrement. Certaines de ces approches sont encore en phase d'essais cliniques.

Il est essentiel de noter que le choix du traitement dépendra de la gravité du psoriasis, de son emplacement sur le corps, de l'âge du patient, des antécédents médicaux et d'autres facteurs individuels. Le suivi médical régulier est important pour surveiller l'efficacité du traitement et ajuster si nécessaire. Les traitements du psoriasis peuvent avoir des effets secondaires potentiels, et il est important de discuter de ces risques avec un professionnel de la santé.

Chapitre II: Matériel et méthodes

Chapitre II : Matériel et Méthodes

II. Matériel et méthodes

II.1 Matériel

II.1.1 Matériel biologique

Dans le cadre de cette étude, le matériel biologique utilisé est :

Carapaces de crevettes, Peaux de poissons (sole, raie et seiche), les têtes et les visières des poissons (tête d'espadon, tête et visière des petites pélagiques), les coquilles des huitres, foie de requin, rats, souris NMRI, lapins albinos de 1.5 kg au moins, germes pathogènes.

II.1.2 Matériel non biologique

Dans le tableau II.4 ci-dessous sont listés les différents appareils, réactifs et excipients utilisés:

Tableau II.4 : Le matériel non biologique utilisé lors de cette étude :

Appareillage et matériels de laboratoire	Réactifs	Excipients
La verrerie (béchers, éprouvettes, pipettes graduées, pipettes Pasteur, bouchons, boîtes, fioles, tiges en verres, anse de platine). – Mixeur, bras mixeur, fouet électrique, spatules, fouets manuels. – Balance à précision 10^{-6} (Shimadzu AUW 220 D Uni Bloc), creusets. – Étuve (memmert), four à moufle (wise therm), centrifugeuse, dessiccateur, pH mètres, thermomètres. – Microscope photonique ZEISS AxioCam ERc-5s. – Agitateur magnétique (KiKaWerkeTopMix FB15024), barreaux magnétiques, plaques chauffantes. – Appareil de Soxhlet (huberminichiller), évaporateur rotatif (Ika HB10), chauffe ballon (BensteadElectrothermal). – Spectrophotomètre UV-Visible (Shimadzu UV-1800). – Spectroscopie infrarouge à transformée de fourrier FTIR. Appareil de chromatographie en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse (GC-SM) Autoclave (SANOclav).	– Réactif de Biuret. – Éther diéthylique, acétone, éthanol, alcool chirurgical 70°. – HCl, acide acétique, acide citrique. – Solution tampon peptonée au NaCl pH7. – Milieux gélosés : sabouraud dextrosé, cétrimide, Chapman, PCA. – NaOH, K_2HPO_4 , KH_2PO_4 . – Crème Nivea. – Thiopental. – Eau distillée stérile, eau physiologique stérile. 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl Galvinoxyl Galvinoxyl ABTS•+ (7 mM) Acétate d'ammonium $ACNH_4$	Amidons de maïs Stéarate de magnésium Emulsifiant N°3 Huile de foie de morue Huile de coco Vaseline Conservateur Cosgard

<p>Micro plaques et Lecteur de microplaque (PerkinElmer) Gélulier Compresseuse</p> <ul style="list-style-type: none"> – Maillet, ciseaux, pinceau. – Papiers essuie tout, coutons, papier aluminium, film alimentaire, et papier cuisson. – Boudins de dialyses pectrapor de porosité MWCO : 12-14,000 Da, fils alimentaires. – Bols en acier inoxydable. – Lames de bistouris Stériles, et rasoir à lame interchangeable. – Pansements stériles et bandes de gazes. – Hotte à flux laminaire vertical. – Boîtes de pétri 90 mm de diamètre, bec bunsen. – Étuves réglées à (30-35°C, 20-25°C) et bains marie réglés à (45°C, 100°C). 	<p>Chlorure de cuivre CuCl₂, Néocuproïne Neocupronin Potassium de Ferrycyanure de (1%) Acide tri- chloroacétique (10%) Chlorure de fer anhydre (0,1%) Chlorure de fer anhydre (0,2%) phénantroline (0,5%) Sulfate de fer (8mM) AgNP Iodure de potassium iode IKI Carbonate de magnésium</p>	
--	--	--

Partie A : Extraction et caractérisation des biomolécules marines

II.2 Echantillonnage

II.2.1 Collecte de la matière première

Un panel de ressources marines a été exploité et introduit dans la préparation d'une gamme des compléments alimentaires et une crème.

- La collecte des coproduits marins a été réalisée en Janvier 2023. Les carapaces de crevettes, les peaux de poissons (sole, raie et seiche), tête d'espadon, l'ose de la seiche, le foie de requin ont été récoltés aux niveaux de la pêcherie d'Alger centre. Les coquilles des huitres, moules, Anomia ont été récoltés aux niveaux de la ferme aquacole **CULTMAR** à kouali 3(Tipaza).

II.2.2 Identification des espèces (crevette, huitre, nacre, espadon)

L'identification de l'espèce a été faite en se basant sur les fiches FAO (Fischer & al, 1987) au niveau du laboratoire **LBCM 2 de l'ENSSMAL**, et ce en examinant un individu entier conservé lors de la collecte de la matière première.

II.2.3 Prétraitement des coproduits

II.2.3.1 Prétraitement de carapace de crevette

Le traitement initial des déchets de crustacés débute en les rinçant avec de l'eau propre. Cette étape vise à éliminer les résidus de sang, les épiphytes ainsi que les particules de sable. Par la suite, un second rinçage est effectué en utilisant de l'eau distillée. Les coproduits sont ensuite séchés dans une étuve à une température de 37°C pendant une durée de 24 heures. Une fois cette étape terminée, les carapaces sont broyées à l'aide d'un mixeur pour obtenir une poudre très fine, avec un diamètre inférieur à 200µm. La poudre résultante, dérivée des carapaces de crustacés, est préservée dans des récipients placés dans un dessiccateur à température ambiante, jusqu'à son utilisation ultérieure. (**Annexe 01**)

II.2.3.2 Prétraitement des coquilles des huitres et l'os de seiches

Nettoyage des coquilles et l'os : ils doivent être soigneusement nettoyés pour éliminer les restes de chair, de sable et d'autres contaminants. Vous pouvez les laver à l'eau claire et les brosser si nécessaire.

- Séchage : Les coquilles nettoyées doivent être séchées pour éliminer l'humidité résiduelle. Cela peut se faire à l'air libre sous le soleil ou dans un four à basse température.

- Broyage : Les coquilles d'huîtres séchées sont ensuite broyées en une poudre fine à l'aide d'un moulin ou d'un broyeur. Cette poudre contient du carbonate de calcium ainsi que d'autres minéraux présents dans les coquilles.
- Tamisage : La poudre de coquille broyée peut être tamisée pour obtenir une granulométrie plus homogène, si nécessaire.
- Stockage : Le carbonate de calcium obtenu à partir des coquilles d'huîtres marines est maintenant prêt à être stocké dans des contenants hermétiques pour éviter toute humidité (**Annexe 2**).

II.2.3.3Prétraitement des peaux de poissons

Les divers types de peaux de poissons ont subi un processus de nettoyage pour éliminer tout résidu de sang, de chair et de vaisseaux sanguins. Ce nettoyage a été effectué en trois étapes : tout d'abord, les peaux ont été rincées à l'eau du robinet, puis elles ont subi un deuxième rinçage avec de l'eau distillée. Enfin, un troisième rinçage a été réalisé en utilisant un tampon phosphate pour éliminer toute chair de poisson restante collée à la peau. Ensuite, les peaux ont été séchées dans une étuve à 35°C pendant 48 heures. Une fois séchées, les peaux ont été découpées à l'aide de ciseaux et broyées avec un mixeur. Après ce processus de broyage et de tamisage, nous avons obtenu séparément la peau et les écailles (**Annexe 3**).

II.3 Détermination de la composition biochimique globale des coproduits (Carapaces de crevettes, coquilles des huitres, les os de seiche).

II.3.1 Détermination de la teneur en l'eau

La méthode référentielle (AOAC, 1980) a été utilisée pour déterminer la teneur en eau des échantillons. Cette méthode se base sur le calcul de la perte de masse subie par l'échantillon lorsqu'il est séché dans une étuve à une température de 105°C pendant 24 heures. Cette procédure permet d'éliminer toute trace d'eau tout en préservant la matière organique présente dans l'échantillon.

Mode opératoire:

- Peser les creusets vides, et noter son poids M0;
- Tarer ce poids, puis peser 2 g d'échantillon dans le creuset;
- Mettre l'échantillon dans l'étuve à 105°C jusqu'à stabilisation de son poids (24h);
- Laisser refroidir dans le dessiccateur, puis noter le poids final de l'échantillon sec;

La teneur en eau est calculée par de la formule suivante:

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

Avec: M0: poids du creuset vide; M1: poids du creuset avec l'échantillon avant séchage à 105°C; M2: poids du creuset avec l'échantillon après séchage.

II.3.2 Détermination de la teneur et de la composition en matière minérale

Pour déterminer la teneur en cendres des échantillons, nous avons utilisé une méthode référentielle. Tout d'abord, les échantillons ont été séchés dans une étuve à une température de 105°C pendant 24 heures afin d'éliminer toute l'humidité. Ensuite, ces échantillons secs ont été incinérés dans un four à moufle à une température de 600°C pendant 4 heures, conformément à la méthode décrite dans l'AOAC (Association of Official Analytical Chemists) de 1999 (AOAC, 1999).

Mode opératoire:

- Peser les creusets en porcelaine vide;
- Peser 2g des poudres des coproduits séchée préalablement (105°C pendant 24h);
- Placer les creusets dans le four à moufle à 600°C pendant 4 heures (M1) (Annexe4)
- Retirer les creusets et le placer dans un dessiccateur;
- Peser les creusets pour déterminer la masse des cendres (matière minérale) après avoir été refroidis dans un dessiccateur (M2);

La teneur en matière minérale est calculée par la formule suivante :

$$C\% = \frac{M2 - M0}{M1 - M0} \times 100$$

Avec : M0 : poids du creuset vide; M1: poids du creuset avec l'échantillon sec avant incinération; M2 : poids du creuset avec l'échantillon après incinération à 600°C.

II.3.3 Détermination de la teneur en protéine totales

La détermination de la teneur en protéines totales est effectuée par la méthode de Bradford modifiée. C'est une méthode de dosage colorimétrique des protéines. Elle est utilisée pour mesurer la concentration en protéines totales dans un échantillon, elle repose sur l'utilisation de bleu brillant de Coomassie dans un milieu éthanolique acide, ce colorant se lie aux protéines par des liaisons ioniques avec des acides aminés aromatiques (phénylalanine,

tyrosine, tryptophane) et des interactions hydrophobes avec les acides aminés hydrophobes (BRADFORD, 1976). Cette liaison entraîne un déplacement du pic d'absorption de 465 nm (brun orangé) à 595nm (bleu). C'est une méthode très sensible (2-5 µg de protéines), reproductible et très rapide. Le réactif ne réagit pas avec les acides aminés libres. La masse du peptide ou de la protéine doit être au moins de 3 k Da (**Annexe4**).

Mode opératoire :

- La protéine de référence est la BSA (Sérum Albumine Bovine) ;
- Préparer une solution à 1% de BSA dans de l'eau distillée, qui sert à préparer la gamme étalon.
- Des volumes croissants de BSA ont été introduits dans les tubes de la gamme ;
- Les échantillons (poudre de carapaces de crevettes, poudre des coquilles des huitres, poudre de l'ose) ont été également dissouts dans un volume d'eau distillée déterminé ;
- Ajouter à tous les tubes un volume déterminé du réactif de Bradford.
- Le mélange est incubé à l'abri de la lumière à une température ambiante pendant 10 minutes ;
- Un volume de chaque mélange a été prélevé après incubation est mis dans la cuve de spectrophotomètre.
- La lecture a été réalisée à une longueur d'onde de 595 nm.
- Tracer la courbe et déduire l'équation $DO = f(BSA)$

II.3.4 Détermination de la teneur en lipides totaux

L'extraction des lipides totaux est effectuée par la méthode de Soxhlet qui est une méthode gravimétrique (El Houda, 2017).

Principe de la méthode de Soxhlet : L'échantillon est placé dans une cartouche de cellulose, l'extraction se fait en continu par l'éther diéthylique en ébullition (35°C) qui dissout graduellement la matière grasse. Le solvant contenant la matière grasse retourne dans le ballon par déversements successifs causés par un effet de siphon dans le coude latéral (El Houda, 2017). Comme seul le solvant peut s'évaporer de nouveau, la matière grasse s'accumule dans le ballon jusqu'à ce que l'extraction soit complète. Une fois l'extraction terminée, l'éther diéthylique est évaporé sur un évaporateur rotatif. La matière grasse et récupérée dans le ballon séché qui est pesé (Sahoré & Abouattier, 2016). Les capsules de cellulose sont perméables au solvant et à la matière grasse qui est dissoute (**Annexe 4**).

Mode opératoire :

- Mettre en marche le réfrigérant à 2°C;
- Peser le ballon vide avant extraction;
- Dans une cartouche de cellulose peser 2g de poudre de échantillon ;
- Placer la cartouche dans la chambre d'extraction;
- Prévoir un blanc qui ne contiendra que le solvant (pour confirmer l'absence de composés lipidique ou d'impuretés dans celui-ci);
- Ajouter 160 ml d'éther éthylique;
- Chauffer le ballon à 60°C, l'extraction dure 4 heures;
- Une fois le temps écoulé le ballon est placé dans un rota-vapeur à 60°C afin de concentrer les lipides tout en éliminant le solvant;
- Repeser le ballon. La teneur en lipide est déterminée à l'aide de l'équation suivante :

$$L\% = \frac{P1 - P0}{m} \times 100$$

Avec : P0 : poids du ballon vide; P1 : poids du ballon qui contient l'échantillon après le passage par le rota vapeur; P1-P0: la masse des lipides; m : le poids de l'échantillon (2g)

II.3.5 Composition minérale des coquilles des huitres et des os de seiches

II.3.5.1 L'analyse par XRF

L'analyse par XRF a été faite au nouveau de Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico – Chimique (CRAPC).

Principe : La spectroscopie par fluorescence de rayons X est une technique analytique de spectroscopie atomique qui implique le bombardement des échantillons avec un rayonnement primaire, lors de cette interaction, le rayonnement primaire excite les électrons dans les coquilles internes des atomes et provoque une perte d'électrons dans la coquille. Les électrons comblent alors cette lacune dans les coquilles d'énergie inférieure en émettant des photons à une longueur d'onde précise. La fluorescence résultante peut être utilisée pour déterminer les éléments présents dans l'échantillon de Na à U. (Herreros-Chavez et al., 2019)

- Mode opératoire : Un appareil XRF équipé d'un tube à rayons X a été utilisé. L'échantillon solide de fine granulométrie est placé dans une coupelle à bague de 32 mm de diamètre, il est ensuite recouvert d'un film en Mylar à travers lequel il est analysé. Le lancement des analyses peut alors être piloté depuis l'ordinateur.

II.3.5.2 Dosage de calcaire (calcimétrie)

Le calcaire total groupe les carbonates insolubles des sédiments, ceux du calcium et du magnésium. Il est mesuré par l'intermédiaire du calcimètre de Bernard. Il peut également être apprécié par le test d'effervescence.

- Principe :

Sous l'action d'un acide fort, l'acide chlorhydrique, les carbonates se décomposent. Il en résulte un dégagement de gaz carbonique. La méthode au calcimètre de Bernard permet la mesure du volume de CO₂ dégagé, recueilli dans un tube gradué. Le test d'effervescence permet d'estimer, à l'œil nu, l'importance des bulles formées.

- Mode opératoire

Montage du calcimètre

Un calcimètre permet de mesurer le volume de CO₂ dégagé par action de l'acide chlorhydrique (HCl) sur le carbonate de calcium (CaCO₃) d'un échantillon.

On peut fabriquer un calcimètre avec :

- une ampoule
- un tube gradué de 100 cm³
- un erlenmeyer de 100 cm³
- un petit tube en verre environ deux fois moins haut que l'erlenmeyer
- deux bouchons à 1 trou adaptés au tube gradué et à l'erlenmeyer
- 1,5 m de feuille anglaise

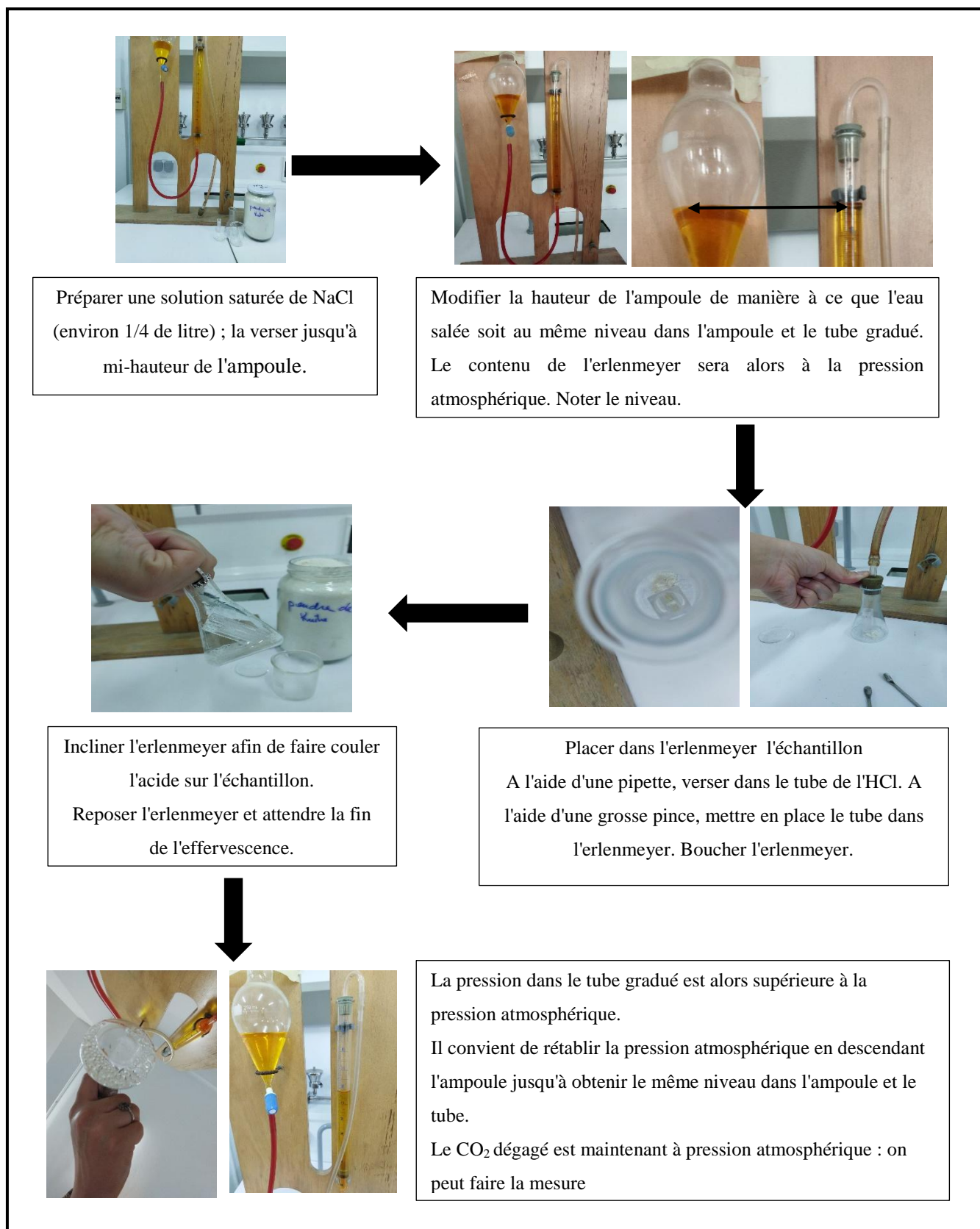
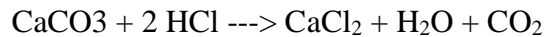


Figure II.9 : Diagramme générale de la calcimétrie

Le calcul de la teneur en CaCO₃



Si l'acide HCl est en excès, son action sur une mole de CaCO₃ (100g/mol) libère une mole de CO₂ (22,4 soit 22400 mL).

Connaissant le volume de CO₂ dégagé (niveau final - niveau initial), faire un produit en croix pour calculer la masse de CaCO₃ attaqué

$$\begin{array}{ccc} 100 \text{ g CaCO}_3 & \longrightarrow & 22400 \text{ ml CO}_2 \\ X & \longrightarrow & \text{Volume marqué} \end{array}$$

II.4 Extraction de la chitine et du chitosane

La chitine peut être extraite à partir des carapaces de crustacés par deux méthodes, biologique par l'utilisation des enzymes, ou chimique en utilisant des acides et des bases, dans le présent travail, le protocole adopté est basé sur l'extraction chimique qui comporte 3 étapes (Truong & al., 2007), à savoir:

Dépigmentation et délipidation; Déminéralisation; Déprotéinisation et désacétylation(Liu & al., 2020).

Mode opératoire : (Figure II.10)

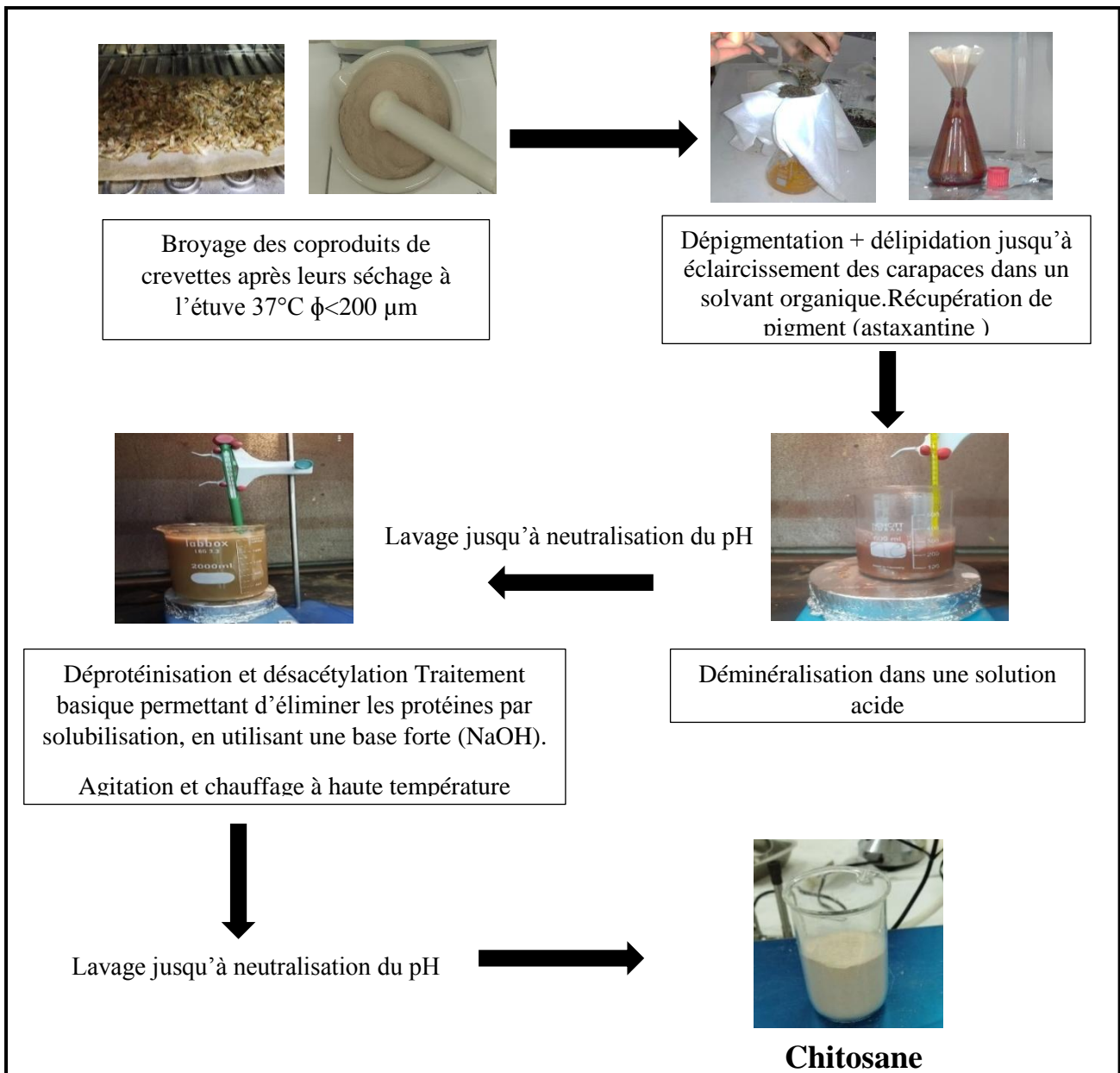


Figure II.10 : Diagramme général de production du chitosane à partir des coproduits de crevettes

II.5 Caractérisation du chitosane produit

II.5.1 Rendement massique

L'élimination des groupes acétyles de la chitine permet d'obtenir le chitosane. Le rendement massique est calculé en utilisant la formule mentionnée ci-dessous:

$$Ym = \frac{Mf}{Mi} \times 100$$

Avec : M_i : la masse initiale en g ; M_f : la masse finale en g.

II.5.2 Test de solubilité

Dissoudre 0.1g du chitosane en poudre dans 10 ml d'une solution d'acide acétique (1%), sous agitation constante pendant une nuit à température ambiante jusqu'à sa solubilisation (Fernandez-Kim, 2004). La chitine est insoluble dans l'acide acétique 1% car elle ne peut pas être protonée à cause de l'absence de groupement amine et/ou un faible degré de désacétylation, en revanche le chitosane est complètement soluble dans l'acide acétique 1%

II.5.3. Calcul du degré de déprotéinisation

Le degré de déprotéinisation permet d'évaluer l'efficacité du traitement de déprotéinisation. Il est calculé par la formule suivante :

$$DP = \frac{(P_0 M_0) - (P_r M_r)}{(P_0 M_0)} \times 100$$

Avec

M_0 et M_r sont les masses initiale et résiduelle du produit hydrolysé; P_0 et P_r sont les pourcentages de protéines dans le produit initial et résiduel respectivement. La teneur en protéines est déterminée par la micro méthode de Bradford décrite précédemment.

II.5.3 Calcul du degré de déminéralisation

Le degré de déminéralisation est calculé par la formule suivante :

$$DM = \frac{(A_0 M_0) - (A_r M_r)}{(A_0 M_0)} \times 100$$

Avec : Mo et Mr sont les masses initiale et résiduelle du produit hydrolysé, Ao et Ar les pourcentages de cendres dans le produit initial et résiduel respectivement. Ces taux sont estimés par la méthode (AOAC, 1999).

II.5.4 Calcul du degré de désacétylation

II.5.4.1 FTIR (spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier FTIR)

L'analyse a été faite au nouveau Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico – Chimique (CRAPC). Ce test a été utilisé afin de caractériser la structure du chitosane extrait et de déterminer son degré de désacétylation.

Principe de la FTIR

La spectroscopie infrarouge par transformée de Fourier constitue une méthode d'analyse qui permet de détecter la présence de motifs chimiques spécifiques. Cette approche est fondée sur les mouvements vibratoires des liaisons entre atomes au sein des molécules. Le procédé implique l'exposition de l'échantillon à un rayonnement infrarouge. Lorsque la fréquence de ce rayonnement concorde avec une fréquence vibratoire des molécules étudiées, un phénomène d'absorption se produit. Cette interaction se manifeste par un pic d'absorption sur le spectre en absorbance.

Le degré de désacétylation du chitosane a été calculé en utilisant la formule mentionnée par (Hafsa & *al.*, 2016) et qui est la suivante :

$$\frac{A_{1320}}{A_{1420}} = 0.3822 + 0.03133 \cdot DA \quad \text{Avec : } DA = 100 - DDA$$

A1320 : l'absorbance au nombre d'onde 1320cm⁻¹

A1420 : l'absorbance au nombre d'onde 1420cm⁻¹

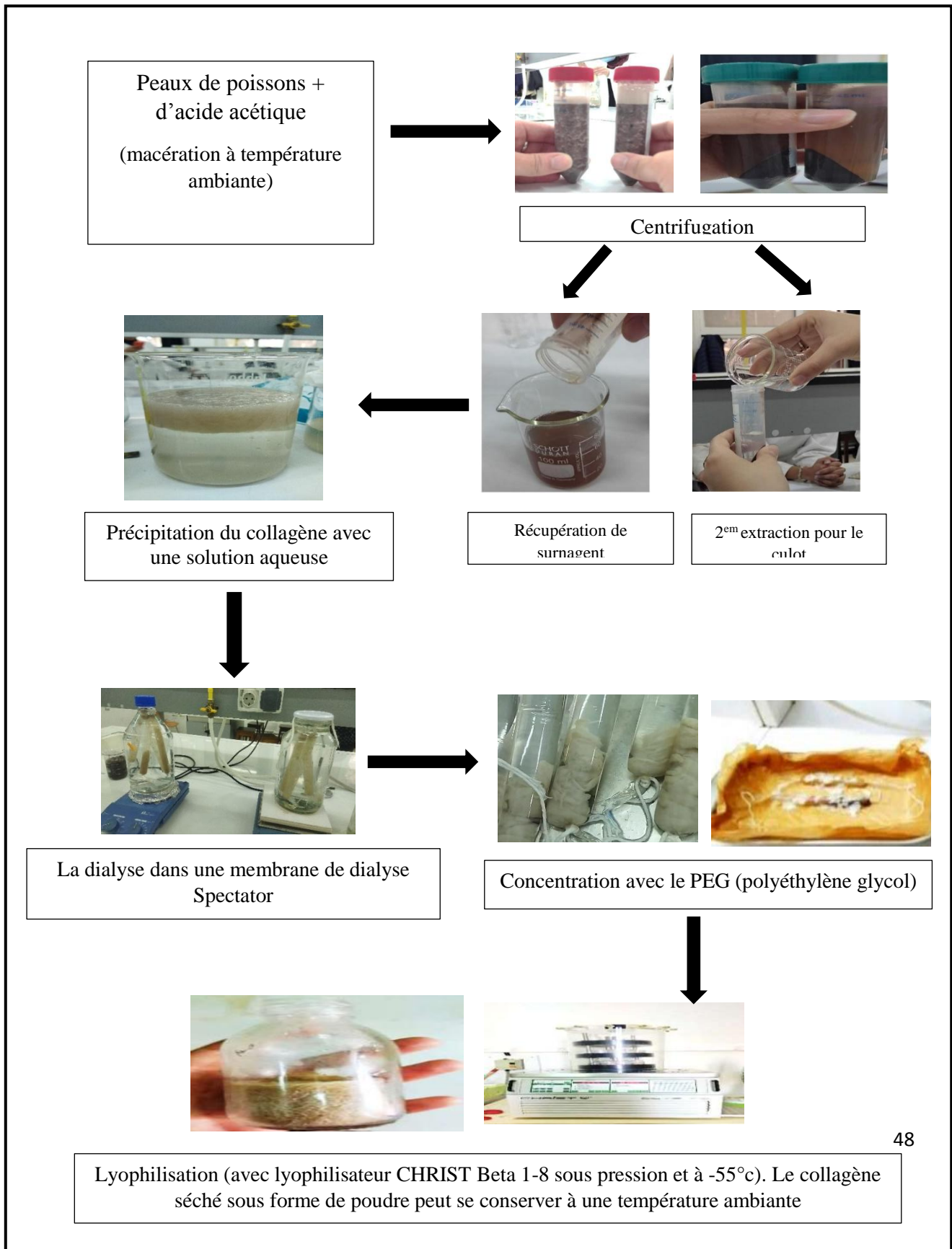
II.6 Extraction du collagène à partir des peaux de poissons

II.6.1 Méthode d'extraction du collagène

l'extraction du collagène fut avec un acide suivant la méthode de modifiée (KHAROUBI & *al.*, 2017)

1. Extraction acide comme dans le présent travail,
2. Extraction par précipitation saline
3. Extraction enzymatique

Mode opératoire :



II.6.2 Mise en évidence du collagène extrait

II.6.2.1 Test du biuret

Il s'agit d'une méthode de dosage des protéines basée sur la colorimétrie. Elle repose sur la création d'un complexe dans un environnement alcalin entre les ions cuivre II (Cu^{2+}) et les protéines, plus spécifiquement les atomes d'azote des liaisons peptidiques des protéines. Si un complexe mauve se forme, le test est considéré comme positif, indiquant la présence de protéines. En revanche, si le complexe reste bleu, le test est considéré comme négatif, signifiant l'absence de protéines (Lablack, 2012).

Mode opératoire :

- Dans un petit tube à essai on met 0.5 ml du collagène extrait,
- On rajout 3 à 4 gouttes de NaOH, ensuite,
- On rajoute quelques gouttes de sulfate de cuivre CuSO_4 , après le mélange on obtient un complexe violet,
- On compare le résultat avec un témoin positif (la protéine de référence BSA), et un témoin négatif (l'eau distillée).

II.6.2.2 Test à la xanthoprotéine

Le test xanthoprotéique est une méthode biochimique utilisée pour caractériser et identifier les acides aminés qui contiennent des groupes phénoliques ou indoliques. Plus précisément, cette méthode vise principalement à détecter la présence de l'acide aminé tryptophane, qui est abondamment présent dans le collagène.

Ce test repose sur la détection des cycles benzéniques activés lors du chauffage de la protéine en présence d'acide nitrique concentré (HNO_3). Sous l'effet de cette réaction de nitration, un produit de couleur jaune se forme. Ensuite, après l'ajout d'une solution alcaline, le précipité résultant prend une teinte orange en raison de la formation d'un sel (Lablack, 2012).

Mode opératoire :

- Dans un tube à essai propre on met 1 ml de la solution de collagène;
- On ajoute 2 à 3 gouttes d'acide nitrique concentré (HNO_3);
- À l'aide d'une pince, porter le tube à ébullition jusqu'à la formation d'un précipité blanc du collagène dénaturé;

- On jette l'acide et on rajoute 2 à 3 gouttes d'ammoniac;
- Après rajout de l'ammoniac le culot vire à l'orange.

II.6.5 Rendement massique du collagène marin

Le rendement massique du collagène est calculé en utilisant la formule suivante :

$$Ym = \frac{Mf}{Mi} \times 100$$

Avec : M_i : la masse initiale en g ; M_f : la masse finale en g.

II.6.3 Détermination du poids moléculaire du collagène marin par SDS-PAGE

II.6.3.1 Principe de l'électrophorèse SDS-PAGE

La détermination des profils électrophorétiques du collagène a été réalisée selon la méthode de Laemmli (1970). L'électrophorèse a été réalisée en utilisant un gel de séparation de 10% et un gel de concentration de 5%.

La pureté de nos solutions de collagène est évaluée à l'aide d'une technique d'électrophorèse en conditions dénaturantes, appelée SDS-PAGE. Les techniques d'électrophorèse consistent à séparer des molécules chargées sous l'influence d'un champ électrique. Dans le cas de la SDS-PAGE, nous utilisons une molécule tensioactive, le sodium dodécyl sulfate (SDS), pour dénaturer la conformation des protéines.

Le SDS est composé d'une longue chaîne alkyle apolaire et d'un groupement sulfate chargé négativement. Grâce à sa chaîne alkyle apolaire, le SDS peut se lier aux parties hydrophobes des protéines et les rendre solubles. En conséquence, les protéines se déplient et acquièrent une charge négative. La charge totale de la protéine dépend alors de la quantité de SDS liée à sa surface, ce qui est influencé par plusieurs facteurs, notamment la longueur de la protéine, la quantité d'acides aminés hydrophobes présents, et l'état de glycosylation de la protéine.

En général, puisque la distribution du SDS sur les protéines est relativement uniforme, la séparation des protéines se fait principalement en fonction de leur masse moléculaire apparente. Pour garantir des conditions totalement dénaturantes, un réducteur de ponts disulfures, tel que le β -mercaptoéthanol, est ajouté à l'échantillon, qui est ensuite chauffé à 100°C pendant quelques minutes pour rompre les liaisons hydrogènes.

Dans le cas du collagène, nous faisons migrer à travers le gel des chaînes α ainsi que des dimères de chaînes α , notés " β ". Ces protéines migrent au sein d'un gel de polyacrylamide réticulé par des monomères bis-acrylamides.

En ajustant la concentration de monomère acrylamide ou le rapport entre acrylamide et bis-acrylamide, nous pouvons moduler la porosité du gel. Le contrôle de cette porosité nous permet de définir la plage de poids moléculaire que nous souhaitons discriminer. Un gel dense, avec de petits pores, est efficace pour séparer des protéines de faible poids moléculaire, tandis qu'un gel plus lâche, avec de gros pores, est utilisé pour caractériser des protéines de poids moléculaire élevé. Dans le système développé par Ornstein et Davis, les protéines migrent successivement à travers deux gels.

- un gel de concentration sur la partie haute.

Le gel utilisé est un gel à faible densité (5% d'acrylamide, pH = 6,8), auquel on ajoute de la glycine, une substance qui se déplace plus lentement que les protéines sous l'influence du champ électrique. Ce choix permet de concentrer spatialement les protéines, quelle que soit leur masse moléculaire. L'objectif est d'aligner les protéines avant de les faire migrer en fonction de leur poids moléculaire.

- un gel de migration sur la partie basse.

Ce gel présente une densité plus élevée (10% d'acrylamide) et un pH différent (pH = 8,8) par rapport au gel de concentration. En conséquence, la glycine migre plus rapidement que les protéines à l'intérieur du gel de migration. Le changement de gel marque le début de la véritable séparation des protéines en fonction de leur masse moléculaire apparente. Une fois la migration terminée, les protéines sont révélées grâce à une coloration au bleu de Coomassie. En comparant leur migration à celle des marqueurs de poids moléculaire et en utilisant la relation (1), il est alors possible d'attribuer une masse moléculaire à chaque bande. Cette relation est définie comme suit : $\text{Log (masse moléculaire)} = a (\text{mobilité relative}) + b$ (1). La mobilité relative d'une protéine est définie comme le rapport entre sa distance de migration et la distance de migration du front.

II.6.3.2 Protocole de l'électrophorèse

1 – Préparation des plaques – Montage

- Nettoyez méticuleusement une plaque de support et une plaque fine en verre pour chaque gel à l'aide d'éthanol, puis laissez-les sécher.

- Montez les plaques sur le support prévu à cet effet et assurez-vous de leur étanchéité en utilisant de l'eau déionisée.
- Remplissez le gel de migration jusqu'à environ 4-5 mm en dessous de la ligne verte inférieure.
- Ajoutez délicatement de l'eau déionisée jusqu'à atteindre le sommet des plaques afin d'éliminer les bulles d'air à l'interface eau/gel.
- Attendez que le gel de migration polymérise complètement.
- Éliminez l'eau au-dessus des gels en retournant les plaques.
- Utilisez une micropipette pour ajouter le gel de concentration jusqu'à environ 2-3 mm du bord supérieur, en veillant à éliminer les bulles d'air.
- Placez un peigne à 10 puits sur les plaques et laissez le gel de concentration polymériser.

2 – Préparation des cuves à électrophorèse

- Placez les plaques sur le support conçu pour l'électrophorèse, en veillant à ce que les plaques fines soient orientées vers l'intérieur. Ensuite, insérez ce support dans la cuve.
- Remplissez la cuve avec du tampon de migration (1X) jusqu'à ce qu'il atteigne le niveau des plaques.

3 – Préparation des échantillons

- Diluez les solutions de collagène dans de l'acide acétique 500 mM en utilisant les ratios suivants : 1/2, 1/5, 1/10.
- Pour chaque échantillon, prenez 10 µl de solution d'échantillon et mélangez-le avec 10 µl de tampon d'échantillon (Tampon Laemmli) dans un tube eppendorfs. Effectuez une agitation vigoureuse, puis centrifugez pendant 2 minutes à 5000 g.
- Fermez hermétiquement les tubes eppendorf et placez-les dans un bain d'eau en ébullition pendant 3 minutes. Ensuite, refroidissez-les pendant 5 minutes dans de la glace, puis centrifugez-les pendant 2 minutes à 5000 g.

4 – Dépôts des échantillons

- Déposer un échantillon dans chaque puits.
- Réserver un échantillon pour le marqueur de poids moléculaire et/ou pour un échantillon témoin de collagène.

5 – Migration :

- Recouvrir la cuve de son couvercle en respectant les polarités des électrodes.
- Relier les électrodes au générateur.

Migration en deux étapes :

- Configurez le générateur sur 80 volts et démarrez-le (ce qui provoquera l'apparition de petites bulles dans le tampon de migration).
- Laissez-le fonctionner pendant 10 à 20 minutes jusqu'à ce que les dépôts de protéines soient compactés en une seule ligne (ce qui permet la concentration des protéines).
- Ensuite, ajustez le générateur sur 160 volts pour démarrer la migration proprement dite.
- Arrêtez la migration lorsque le front de migration (identifié par le bleu de bromophénol) est proche du bas de la plaque.

6 - Coloration

- Retirez délicatement les gels de leur support.
- Plongez chaque gel dans une solution de coloration contenant du bleu de Coomassie.
- Agitez doucement pendant 1 heure.
- Enlevez ensuite la solution de bleu de Coomassie.

7– Décoloration/lavage

Décoloration rapide :

- Prenez les gels et plongez-les dans la solution de décoloration rapide.
- Agitez-les pendant 1 heure.
- Éliminez la solution de décoloration devenue bleutée.

8 - Décolorant de conservation

- Ajoutez 50 à 100 ml du décolorant de conservation.
- Agitez pendant une nuit.
- Éliminez le colorant.
- Répétez cette étape si le gel conserve une teinte trop "bleue".

9 - Réhydratation

Placez les gels dans de l'eau déionisée pour les laver du décolorant et leur permettre de reprendre leur taille initiale.

10 - Lecture :

Il existe une relation linéaire entre le logarithme de la masse moléculaire d'une protéine et sa mobilité électrophorétique au sein du gel. La détermination de la masse moléculaire étalon ou $\text{Log (MM)} = f(\text{RF})$, où le rapport frontal RF est calculé à l'aide de la formule suivante :

$\text{RF} = \text{Distance parcourue par la protéine} / \text{Distance de migration du bleu de bromophénol}$.

II.7 Extraction de l'huile à partir des têtes d'espadon

II.7.1 Méthode d'extraction de l'huile

L'extraction de l'huile de poisson est basée sur l'isolation de la fraction lipidique du poisson entier (chair et co-produits). Plusieurs méthodes d'extraction des huiles de poisson existent ; la distillation sous vide, le pressage hydraulique, l'extraction par enzymes et l'extraction au solvant, et chacune a ses avantages et ses limites, le choix d'une méthode dépend du coût, de la sécurité du personnel, du taux de fiabilité, des variations de conception et de la taille de l'opération (Bako, 2017).

Protocol

1. Préparation des têtes d'espadon

- Commencez par découper les têtes d'espadon en morceaux plus petits à l'aide d'un couteau de cuisine propre et bien affûté. Vous pouvez retirer les branchies et les parties non comestibles.

2. Hachage des têtes

- Utilisez un hachoir ou un mixeur pour réduire les morceaux de tête d'espadon en une pâte fine. Assurez-vous que la pâte obtenue est homogène.

3. Chauffage de la pâte

- Transférez la pâte obtenue dans un récipient en verre. Placez ce récipient dans autoclave à une température déterminée. Laissez la pâte chauffer pendant 2h heures pour permettre à l'huile de s'écouler.

4. Filtration de l'huile

- laissez-le refroidir à température ambiante.
- Utilisez un tamis ou une passoire fine pour filtrer l'huile des résidus solides. Pressez bien la pâte pour extraire autant d'huile que possible.

5. Stockage de l'huile

Transférez l'huile obtenue dans un récipient propre et hermétique, de préférence en verre ou en acier inoxydable. Conservez l'huile dans un endroit frais et sombre.

II.7.2 Caractérisation de l'huile extraite

II.7.2.1 Test de tache

Réaliser un test de tache en plaçant une petite quantité de l'huile extraite sur un morceau de papier absorbant ou une plaque de chromatographie. L'huile se propagera et formera une tache caractéristique, qui peut être utilisée pour identifier certains types d'huiles en fonction du comportement des taches.

II.7.2.2 Rendement massique

Le rendement massique est calculé comme ce qui suit :

$$\text{Rendement Massique (\%)} = \frac{M_f}{M_i} \times 100$$

Avec

M_i : la masse initiale de matière premier en g ;

M_f : Masse d'huile obtenue en g.

II.7.2.3 Techniques d'analyses chromatographiques.

II.7.2.3.1 Analyse par CCM des huiles de poisson.

L'analyse et la détection de substances naturelles font appel à diverses méthodes de séparation, notamment les techniques de chromatographie. Ces méthodes impliquent généralement l'utilisation d'une phase mobile liquide et d'une phase stationnaire solide. Parmi ces techniques, la chromatographie sur couche mince (CCM) se distingue en tant que méthode abordable et facile à mettre en œuvre.

Principe

C'est une chromatographie d'adsorption où l'on observe la séparation des constituants de l'extrait brut par la phase mobile qui les entraîne le long de la phase stationnaire à des vitesses de migration différentes selon l'affinité de chaque constituant pour les deux phases (STAHL, 1969 ; MESNIL, 2004 et Stahl, 1969).

Protocole

Phase stationnaire : Utilisez une plaque de gel de silice très fine, préalablement activée en la plaçant dans une étuve à 105 °C pendant une heure. Cette étape vise à éliminer l'humidité de la silice en capturant les molécules d'eau.

- Phase mobile : Préparez la phase mobile en mélangeant de l'éther de pétrole et de l'éther diéthylique.
- Témoins : Utilisez un témoin comme point de référence. Pour cela, diluez 0,065 g d'oméga-3 commercialisé dans de l'éther diéthylique.
- Dépôt du témoin : Placez le témoin sur la ligne située à 1 cm de l'extrémité de la plaque de silice.
- Dépôt des échantillons : Déposez les échantillons sur la plaque en laissant un espace de 2 cm entre chaque dépôt successif.
- Migration des constituants : Plongez la plaque de silice dans la phase mobile tout en maintenant les dépôts vers le bas. Observez la migration des différents constituants à mesure qu'ils se déplacent le long de la plaque.

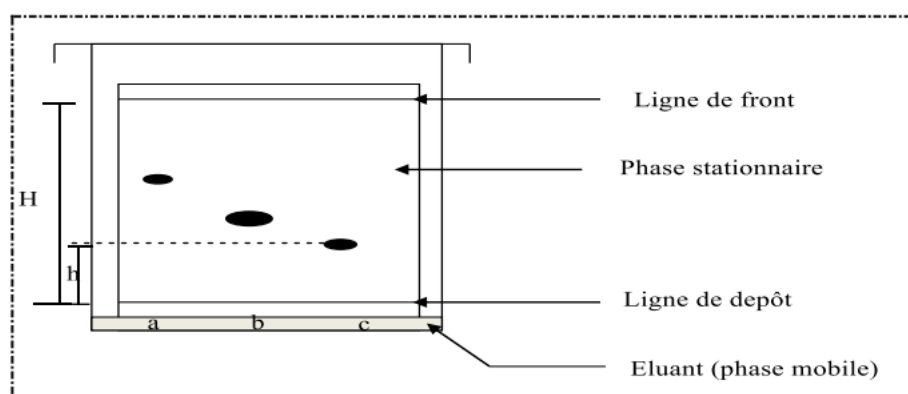


Figure II -12: Schéma représentatif de la méthode CCM

Après que les constituants ont migré et que la ligne de front a été tracée, la plaque est laissée à sécher sous une hotte. Ensuite, elle est placée dans une deuxième cuve saturée de vapeur d'iode pour effectuer la première révélation. La seconde révélation est réalisée en utilisant une solution d'acide phosphomolybdique dilué dans de l'alcool à 5 %.

Mode de calcul :

$$Rf = \frac{h}{H}$$

Avec

h: la hauteur ou distance parcourue par l'espèce chimique ;

H: la hauteur ou distance parcourue par l'éluant.

II.7.2.3.2 Analyse par CPG/SM des huiles de poisson

L'analyse a été faite au niveau de Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico – Chimique (CRAPC).

Principe

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une méthode de séparation des composés, qu'ils soient volatils ou rendus volatils, en utilisant une colonne dans laquelle un gaz inerte, appelé gaz vecteur, transporte les échantillons. Le type de chromatographie (partage ou adsorption) dépend de la nature de la colonne utilisée. Le choix de la colonne est déterminé en fonction des propriétés physico-chimiques des composés que l'on souhaite séparer. Un chromatographe en phase gazeuse comprend généralement un injecteur, un four dont la température est programmable et qui abrite la colonne, ainsi qu'un détecteur (Humbert & Lhermitte, 2005).

L'utilisation d'un spectromètre de masse comme détecteur en chromatographie en phase gazeuse a été pionnièrement développée par GOHLKE en 1959 (Gohlke, 1959).

L'identification des composés de l'huile de poisson était basée sur leurs temps de rétention par rapport aux pics spectraux correspondants disponibles avec les banques de spectres de masse NIST et Wiley. Cette identification a été faite au niveau du Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico Chimiques.

Protocole

1. Préparation de l'échantillon :

Commencez par préparer l'échantillon d'huile. Il est souvent nécessaire de diluer l'huile dans un solvant approprié pour une esterification et obtenir une concentration appropriée pour l'analyse.

2. Réglage du chromatographe :

Assurez-vous que le chromatographe en phase gazeuse est correctement réglé et calibré. Vérifiez que la colonne est en bon état.

- Colonne : Type : HP-5MS
- Dimensions : long 30 m * D int 0.25 mm * épaisseur film 0.25 µm.
- Phase stationnaire : 5 % Phenyl 95 % dimethylpolysiloxane / (Autre : Spécifier).

3. Injection de l'échantillon :

Injectez soigneusement l'échantillon préparé dans le système CG à l'aide de l'injecteur

- Température : 250°C,

- mode d'injection : Splitless,
- volume injecté : 1 µl.

4. Séparation des composés :

Les composés de l'échantillon sont séparés lorsqu'ils traversent la colonne en fonction de leur affinité pour la phase stationnaire. La température du four peut être programmée pour une séparation optimale.

- Température du four : 70 °C pendant 5 min, 10 °C/min jusqu'à 130 °C., isotherme pendant 2 min., 3 °C/min jusqu'à 220 °C, isotherme pendant 4 min, 10 °C/min jusqu'à 280 °C., isotherme pendant 7 min.
- Durée d'analyse : 60 min.
- Gaz vecteur : Hélium pureté : N6 ; Débit GV : 1 ml/min.

5. Détection par spectrométrie de masse :

Les composés séparés sont ensuite détectés à l'aide du spectromètre de masse. Les composés ionisés sont analysés en fonction de leur rapport masse/charge (m/z), ce qui permet leur identification.

- Mode d'analyse : Scan TIC (de 30 à 550).
- Délai du solvant : 3.5 min.
- Température de l'interface : 270 °C.
- Type d'ionisation : Impact électronique.
- Intensité du filament : 70 év.
- Type de l'analyseur de masse : Quadripôles.
- Température de la source : 230 °C

6. Analyse des données : Le logiciel d'acquisition et de traitement des données est utilisé pour analyser les données de sortie du spectromètre de masse. Il permet d'identifier les composés présents dans l'échantillon en comparant leurs spectres de masse à une bibliothèque de spectres de référence.

II.8 Extraction de squalène à partir de foie de requin.

II.8.1 Méthode d'extraction d'huile.

II.8.1.1 Extraction au chaud.

Principe :

En général, le principe de l'extraction d'huile à chaud consiste à chauffer les matières premières riches en graisses pour libérer les huiles contenues dans celles-ci. (Figure II.13)

Protocole :

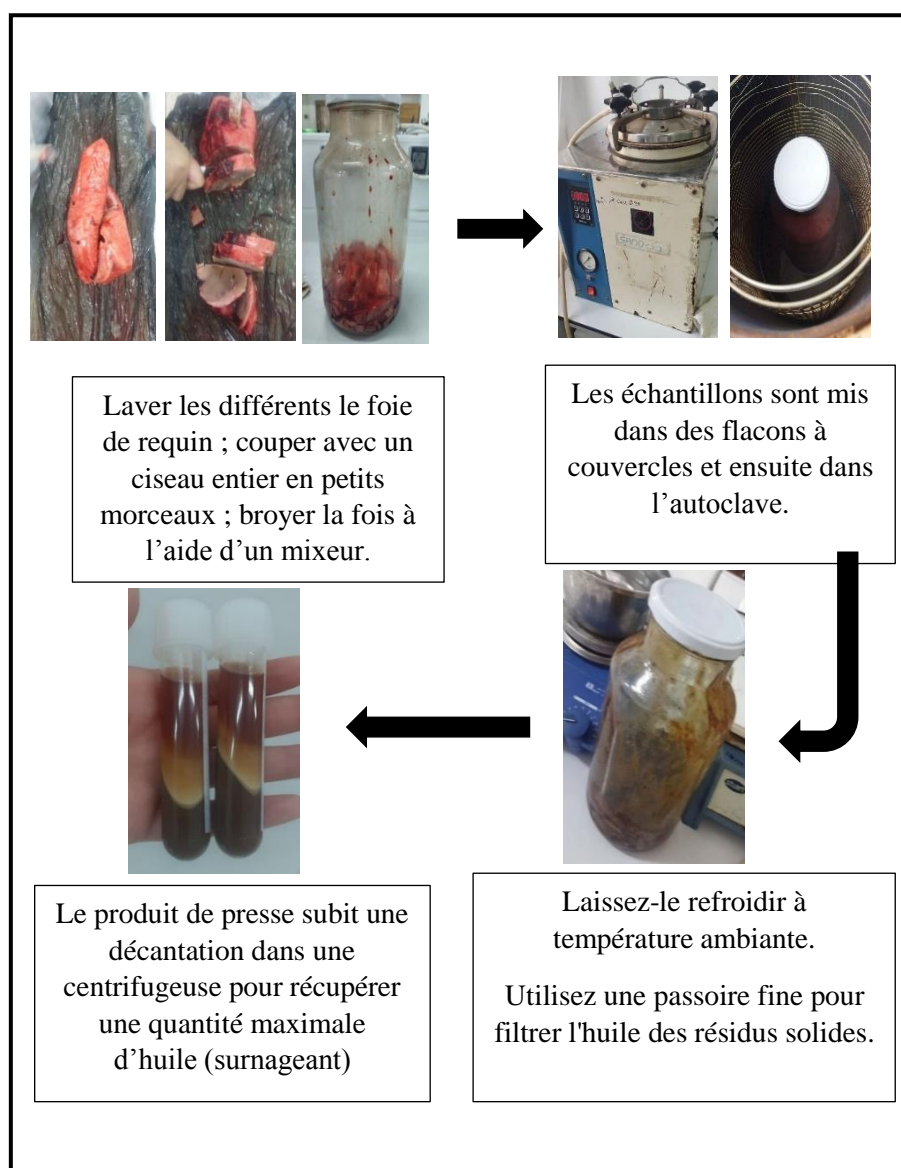


Figure II .13 : Diagramme général d'extraction de squalène au chaud

II.8.1.2 Extraction par solvant

Principe :

Extraction par la méthode de Folch. C'est une technique basée sur une extraction à froid par le chloroforme associé au méthanol (Folch & *al.*, 1957).

Protocole : (Figure II.14)

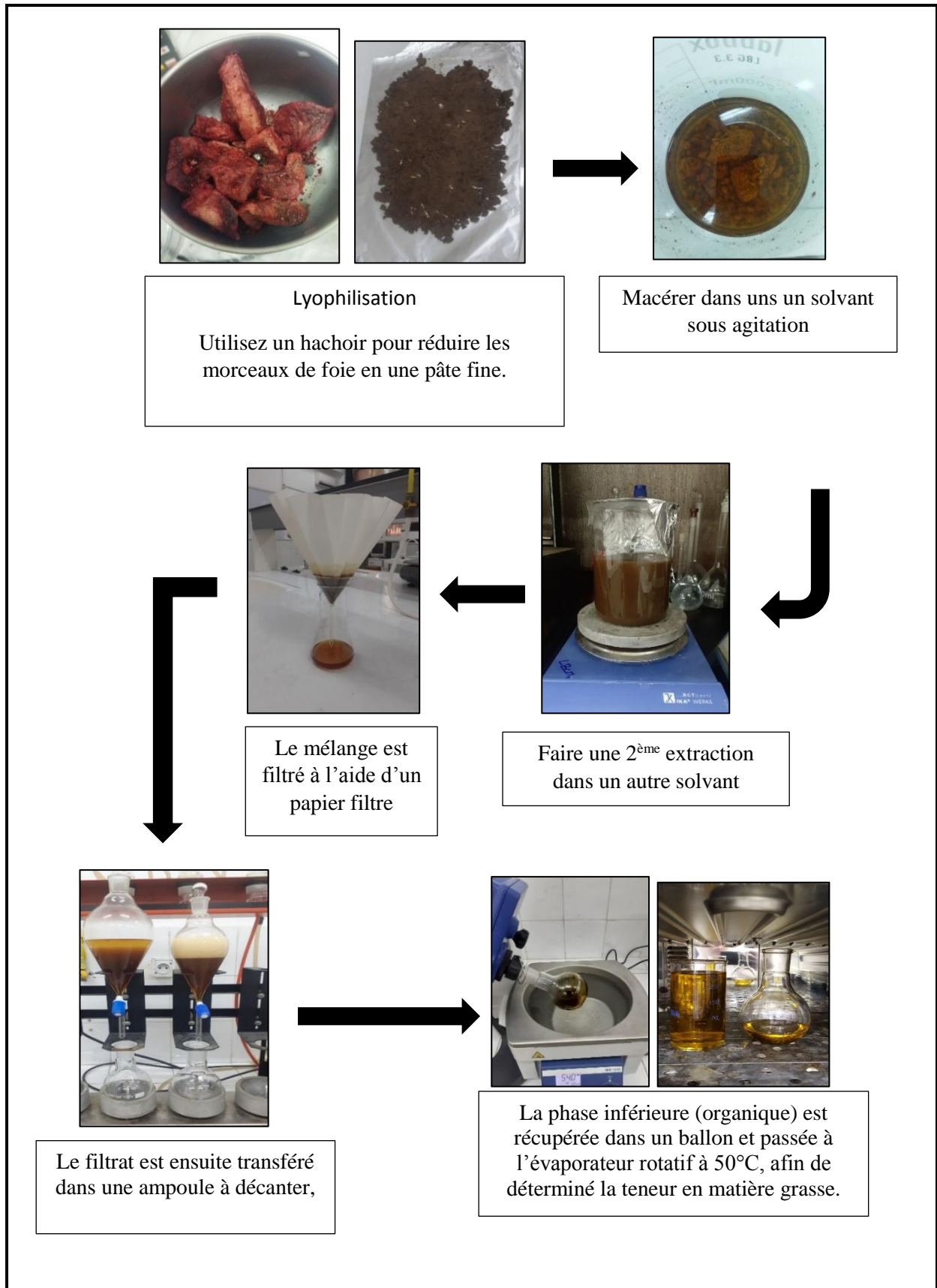


Figure II .14: Diagramme général d'extraction du squalène à l'aide d'un solvant

II.8.2 Caractérisation du squalène produit

La teneur en matière grasse totale de l'échantillon a été calculée ainsi :

$$MG = \frac{M_2 - M_0}{M_1} \times 100$$

Avec

M_0 : Masse en gramme du ballon vide.

M_1 : Masse en gramme de la prise d'essai

M_2 : Masse en gramme de ballon après extraction et séchage

II.9 Protocole des activités biologiques

II.9.1 Activité anti-inflammatoire

La stabilisation de la membrane des globules rouges humains (HRBC) a été utilisée comme méthode pour étudier l'activité anti-inflammatoire (Gandhidasan & *al.*, 1991) modifiée. (Figure II. 7).

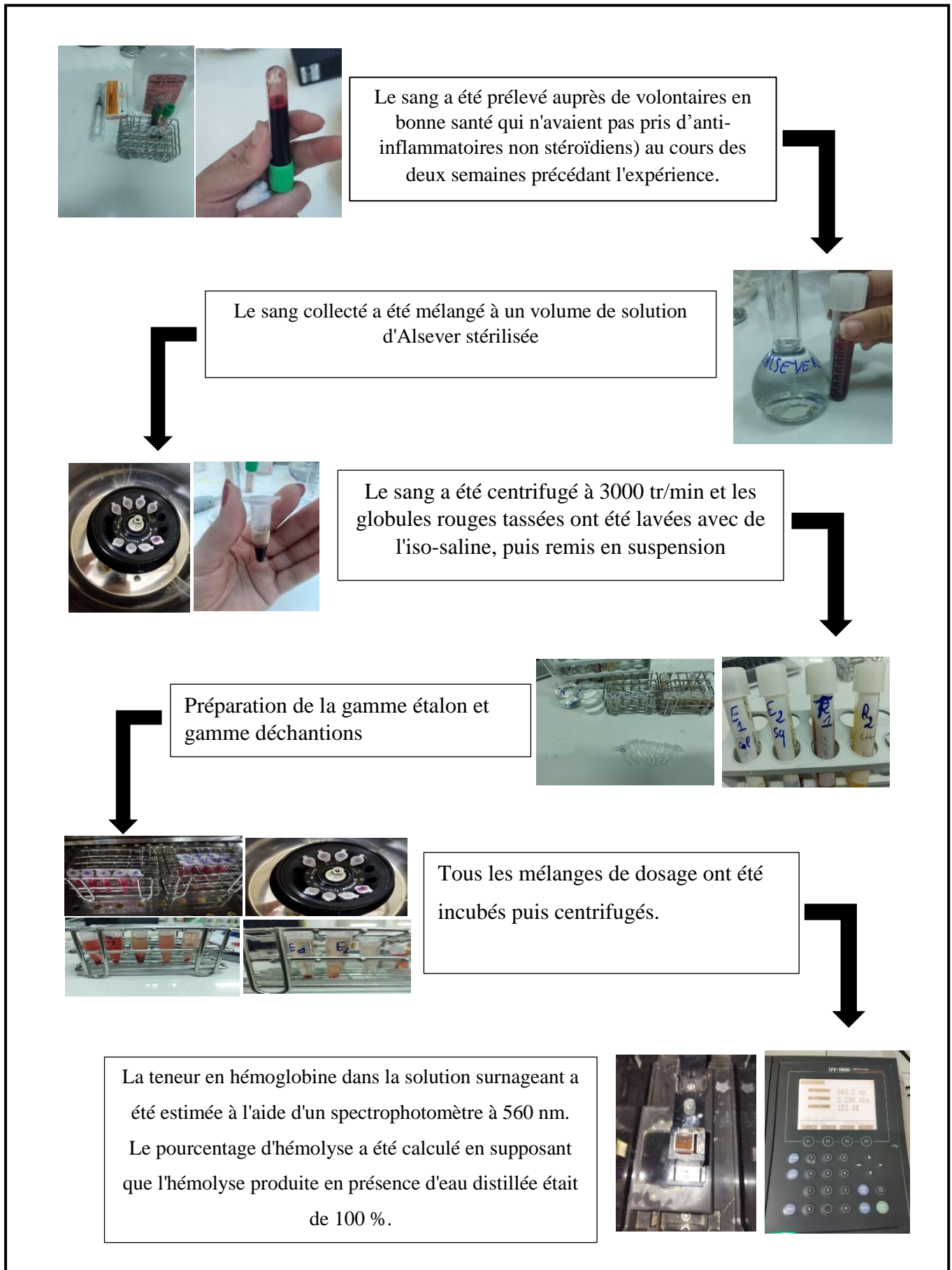


Figure II .15: Protocole de l'activité anti-inflammatoire sur hématies

Les activités anti oxydantes et anti diabétique sont faites au niveau de centre national de biotechnologie (CRBT).

II.9.2 Activités anti-oxydantes

II.9.2.1 Activité anti radicalaire au DPPH•

Principe :

L'activité antiradicalaire au DPPH• est déterminée spectrophotométriquement par la méthode décrite par BLOIS (1958).

Mode opératoire :

Sachant que toutes les opérations sont réalisées en triplicate, Un volume de 160 µl de la solution de DPPH est mélangé avec 40 µl des solutions d'extraits à différentes concentrations (annexe 5) sur une microplaque à 96 puits. Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, les absorbances sont mesurées à 517 nm contre le blanc correspondant à l'aide d'un lecteur de marque PerkinElmer (USA).

Le taux d'inhibition du radical libre de DPPH en pourcentage (%) est calculé de la manière suivante:

$$Inhibition (\%) = \frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{Contrôle}}} \times 100$$

II.9.2.2 Activité du piégeage du cation radical ABTS•+

Principe :

L'activité ABTS est déterminée par la méthode de RE & al. (1999).

Mode opératoire :

Un volume de 40 µl des solutions d'extraits à différentes concentrations est mélangé avec 160 µl d'ABTS •+ (annexe5) sur une microplaque à 96 puits.

Après 10 minutes d'incubation, les absorbances sont mesurées à 734 nm contre le blanc correspondant à l'aide d'un lecteur de marque PerkinElmer (USA) avec son logiciel EnSpire.

$$Inhibition (\%) = \frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{Contrôle}}} \times 100$$

II.9.2.3 Activité du pouvoir réducteur (FRAP)

Principe

Le pouvoir réducteur des extraits est déterminé par la méthode d'OYAIZU (1986) avec une légère modification.

Mode opératoire

Un volume de 10 µl des solutions d'extraits à différentes concentrations est mélangé avec 40 µl d'une solution tampon phosphate (pH 6,6) et 50 µl d'une solution de ferricyanure de potassium (1 %) sur une microplaque à 96 puits. Après 20 min d'incubation à 50 °C, l'ajout de 50 µl d'acide tri-chloroacétique (10 %) et un volume de 40 µl d'eau distillée et 10 µl d'une solution de chlorure de fer (0,1 %) successivement (annexe5)

Les absorbances sont mesurées à 700 nm contre le blanc correspondant à l'aide d'un lecteur de marque PerkinElmer (USA) avec son logiciel EnSpire.

Les résultats ont été calculés à titre de $A_{0,50}$ (µg/ml) correspondant à la concentration indiquant 0,50 d'absorbance.

II.9.2.4 Activité de réduction par la formation du complexe Fe+2 – phénantroline

Principe :

L'activité de phénantroline est déterminée par la méthode de SZYDŁOWSKA-CZERNIAK & al. (2008, Szydłowska-Czerniak et al., 2008).

Mode opératoire :

Un volume de 10 µl des extraits à différentes concentrations est mélangé avec 50 µl de chlorure de fer anhydre (0,2 %). 30 µl de phénantroline (0,5 %) et 110 µl de méthanol ; sont ajoutés successivement (annexe5).

Après 20 min d'incubation à 30 °C, les absorbances sont mesurées à 510 nm contre le blanc correspondant à l'aide d'un lecteur de marque PerkinElmer (USA) avec son logiciel EnSpire.

Les résultats ont été calculés à titre de $A_{0,50}$ (µg/ml) correspondant à la concentration indiquant 0,50 d'absorbance.

II.9.3 Activités enzymatiques

II.9.3.1 Activité antidiabétique

Principe :

L'activité inhibitrice de l'alpha-amylase a été déterminée par la méthode de ZENGIN & al. (2014).

Mode opératoire :

Sur une microplaque de 96 puits, un volume de 25 µl des extraits à différentes concentrations est mélangé avec 50 µl d'une solution d'α-amylase (1 U), puis incubé pendant 10 min à 37 °C.

Ensuite, 50 µl d'amidon (0,1 %) sont additionnés. Le mélange est incubé une autre fois pendant 10 minutes à 37 °C. Après incubation, 25 µl d'acide chlorhydrique (1M) et 100 µl d'iodure de potassium iode sont ajoutés (annexe6).

Les absorbances sont mesurées à 630 nm à l'aide d'un lecteur de marque PerkinElmer (USA) avec son logiciel EnSpire.

Le pourcentage d'inhibition de l'α-amylase a été calculé par la formule suivante:

$$\text{Inhibition (\%)} = 1 - \left(\frac{(A_c - A_e)(A_s - A_b)}{(A_c - A_e)} \right)$$

A_c =Absorbance [Amidon+IKI+HCl+Vol de solvant d'extrait+Vol tampon Enzyme] ;

A_e =Absorbance [Enzyme+Amidon+IKI+HCL+Vol de solvant d'extrait] ;

A_s =Absorbance [Enzyme+Extrait+Amidon+IKI+HCl] ;

A_b =Absorbance [Extrait+IKI+125 µl de tampon].

Partie B : Formulation et production

II.10 Formulation des compléments alimentaires

II.10.1 Compléments alimentaires format gélules

II.10.1.1 Formulation

Sélection des ingrédients :

Le processus commence par la sélection des ingrédients qui seront utilisés dans le complément alimentaire. Ces ingrédients peuvent inclure des vitamines, des minéraux, des acides aminés, des acides gras. (Tableau II.5)

Les quantités exactes de chaque ingrédient sont calculées en fonction de la formule du produit. Cette étape garantit que le complément alimentaire atteindra la teneur en nutriments souhaitée.

Tableau II.5 : Description des produits et leurs propriétés

Complément Alimentaire	Ingrédient principal	Propriétés
Fish oil gélules	Huile de tête d'espadon + Astaxantine	<ul style="list-style-type: none"> - Riche en oméga 3 - Riche en vitamine D - Contribue au bien être cérébral - Soulage les inflammations articulaires - Contribue à diminuer le taux de graisse dans le sang. - Soutient en cas de déprime légère et saisonnière
Minceur gélules	L'extrait du chitosane marin	<ul style="list-style-type: none"> - Empêche l'absorption et la digestion des gras dans l'organisme. (Doctonat, 2019) - Favorise le transit intestinal. - Diminue le taux de «mauvais cholestérol» et de l'acide urique. - Désacétylée à 98%
Collagène marin gélules	L'extrait du collagène marin	<ul style="list-style-type: none"> - Hydrate, raffermir et tonifie la peau - Réduit l'inconfort articulaire et aide à augmenter la densité osseuse - Aide à prévenir la fragilité des cheveux et des ongles - Aide à atténuer les signes du vieillissement comme les rides
Reflux calme	Mélange de CaCO ₃ de	<ul style="list-style-type: none"> - soulage les symptômes de

Comprimés	coquilles des huitres et des os de seiche	régulation acide et des brûlures d'estomac
-----------	---	--

II.10.1.2 Mode opératoire

Préparation des matières premières

Séchage et tamisage des biomolécules marines extraites pour obtenir une texture ou une forme appropriée.

Mélange :

Les ingrédients sont mélangés de manière homogène pour garantir une distribution uniforme des nutriments.

Remplissage :

Le remplissage à l'aide d'un gélulier manuel est un processus relativement simple.

Préparation de l'espace de travail :

Espace de travail est propre et bien éclairé.

Disposez tous les éléments nécessaires à portée de main : le gélulier manuel, les gélules vides, la substance à encapsuler, et un plateau ou une surface plate.

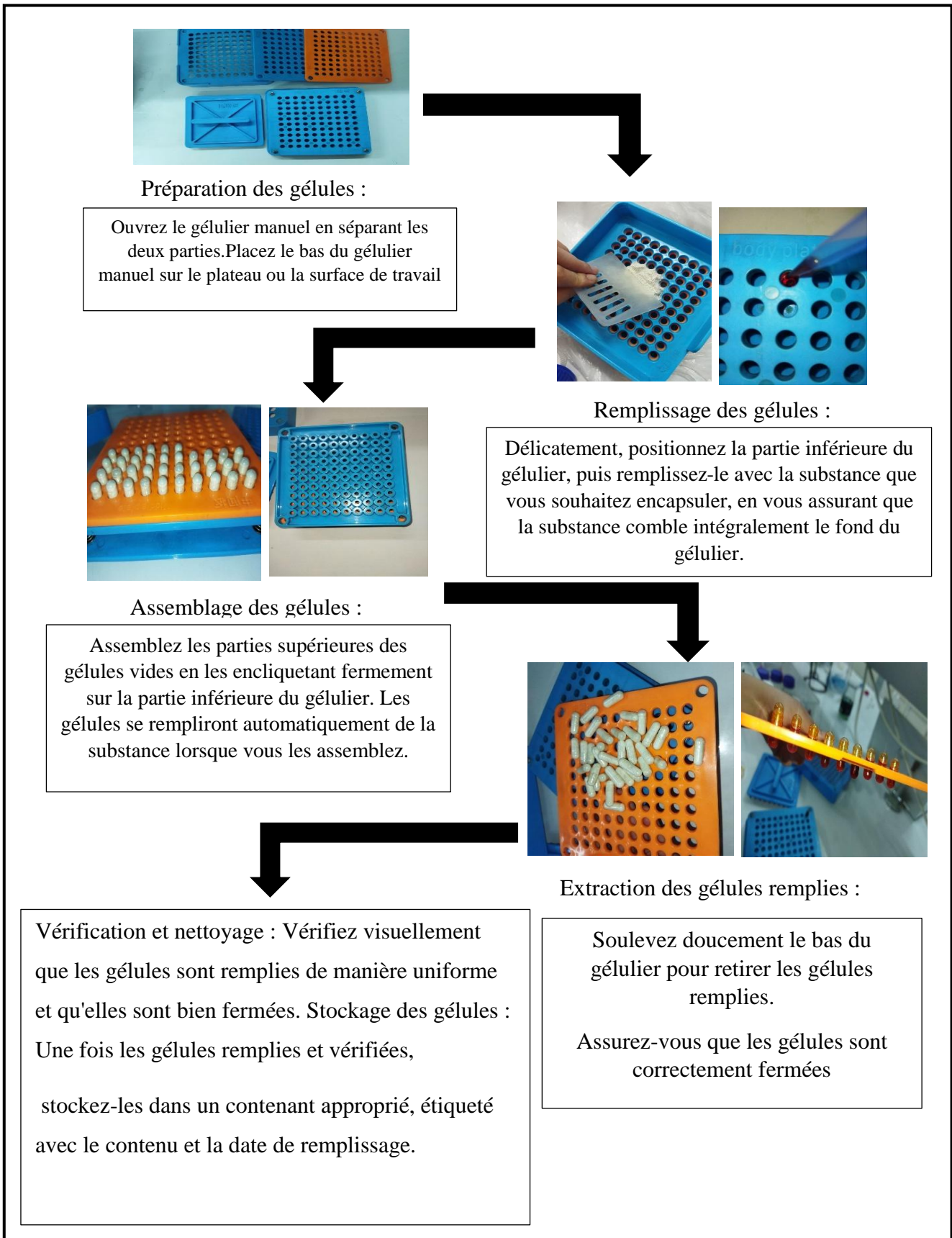


Figure II .16 : Etapes de formulation des gélules

II.10.2 Compléments alimentaires format comprimés

La formulation et la production des comprimés a été réalisée au niveau de **CRD groupe saidal**.

II.10.2.1 Formulation

Nous avons développé une formule simple, qui se rapproche de celle d'un produit anti-reflux gastrique commercial reconnu pour son efficacité. Notre approche repose sur l'utilisation de carbonate de calcium naturel, une option économique. Dans cette formule, nous avons remplacé le carbonate de calcium chimique de la formule de référence par du carbonate de calcium naturel, provenant de la poudre de coquille d'huître et de l'os de seiche.

II.10.2.2 Procédé opératoire

Teste de matière première :



	<p>Humidité résiduelle: Mesuré avec analyseurs d'humidité par infrarouge (IR)</p>
	<p>Écoulement:</p> <p>Placez l'entonnoir sur la surface plane et horizontale (éprouvette). Fermez l'orifice inférieur de l'entonnoir à l'aide d'un bouchon, remplissez l'entonnoir avec la poudre, en veillant à ce qu'elle soit uniformément répartie. Retirez le bouchon pour permettre à la poudre de s'écouler librement.</p> <p>Mesurez le temps de l'écoulement avec chronomètre</p>

Figure II.17 : tests des matières premières entrant dans la formulation des comprimés

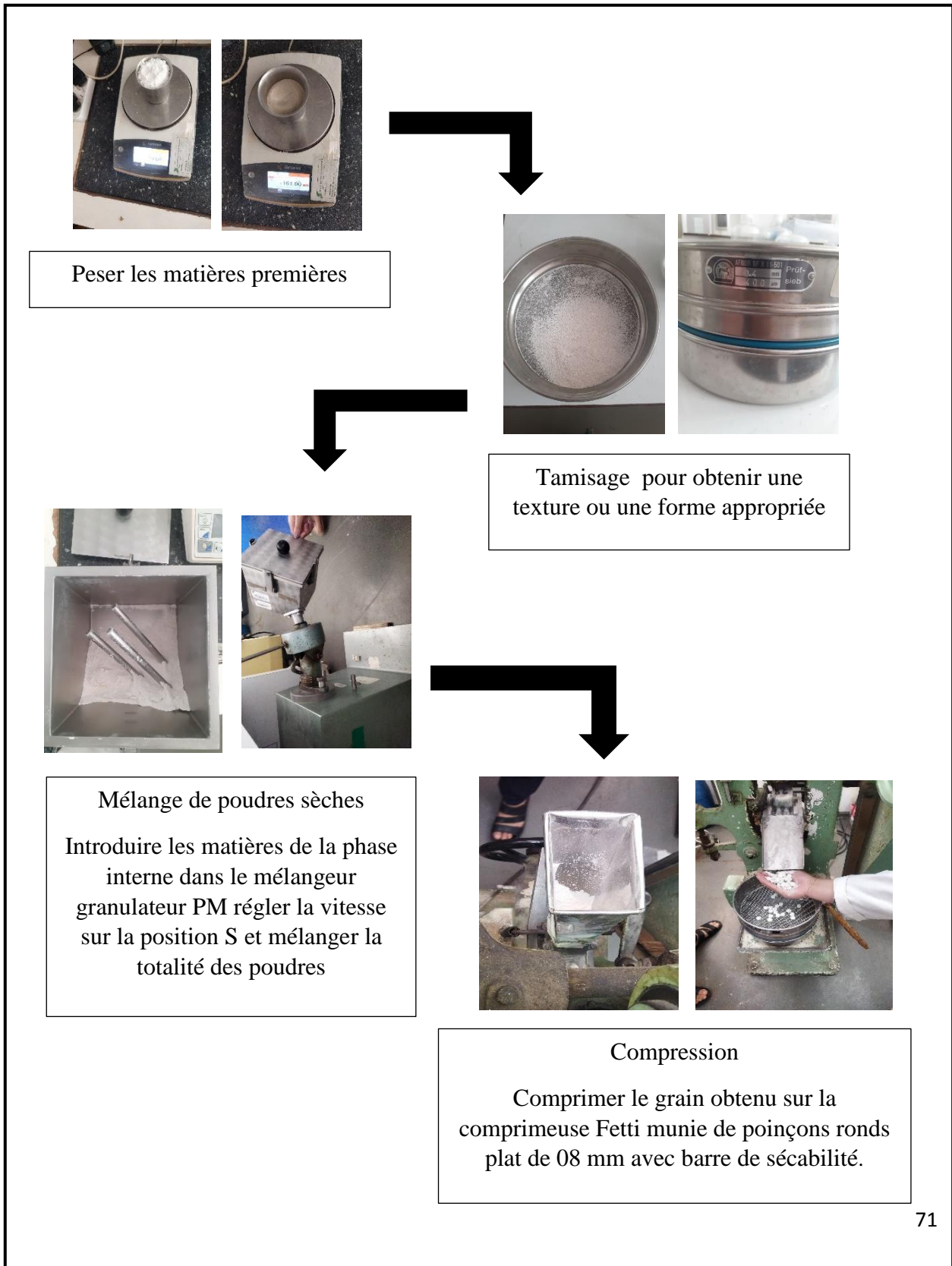


Figure II .18: Etapes de formulation des comprimés

II.10.2.3 Contrôles de produits (pharmaco techniques) :

Les tests pharmacotechniques des comprimés sont effectués au niveau du laboratoire pharmaceutique CRD Saidal

Prendre en considération leur (Poids moyen, délitement, dureté, friabilité). (**Figure II.19**)

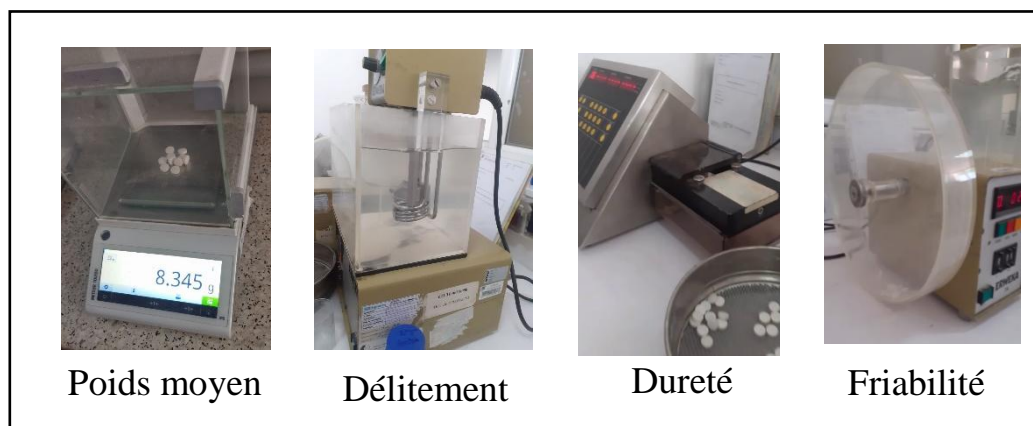


Figure II.19 : les différents tests pharmaco-techniques des comprimés

II.10.2.4 Tests d'activité (étude comparative avec la référence)

Teste d'acidité dans des solutions à différent pH (2,5 / 3 / 5). (**Figure II.20**)



Figure II.20 : Tests comparatifs avec des comprimés de référence

II.10.3 Formulation d'une émulsion contre le psoriasis

II.10.3.1 Etude de pré-formulation

Le pré-formulation implique l'analyse des caractéristiques sensorielles, physiques et chimiques des principes actifs nécessaires à la création d'une formulation pharmaceutique durable et adaptée à une production industrielle. Au cours de cette phase, qui se base principalement sur des recherches bibliographiques, notre étude a confirmé que les matières premières et les huiles que nous avons sélectionnées pour notre formulation ne présentent pas de problèmes de compatibilité. Ainsi, cela suggère que le mélange de ces composants n'aura pas d'incidence négative sur la stabilité de notre émulsion.

II.10.3.2 Etude de formulation

Cette phase nous a permis de choisir de manière qualitative et quantitative les divers actifs que nous avons sélectionnés au cours de la pré-formulation.

Pendant cette étape, nous avons effectué divers essais et contrôles. Ces contrôles visaient à identifier les éventuelles lacunes afin de parvenir à la formulation optimale en apportant des améliorations lorsque c'est nécessaire.

II.10.3.3 Procédé de fabrication

Toutes les formules testées ont été préparées selon le même protocole et selon la méthode d'inversion de phase (CAULLET & *al.*, 2018).

Nous avons procédé comme suit :

- Peser les principes actifs de la formulation.
- Préparer séparément chaque phase.
- Disperser les phases.
- Homogénéiser l'émulsion.
- Ajouter le conservateur.
- Mettre dans des pots stériles.

II.10.3.4 Peser des principes actifs

La première étape consiste à peser les diverses matières premières en utilisant une balance électronique avec une précision de 10^{-6} .

Après avoir calibré la balance, placez la substance à peser dans le récipient (bécher), puis refermez la porte de la balance pour enregistrer la mesure. Il faut noter que les pesées ont été effectuées pour préparer 1 pot de 50g.

II.10.3.5 Préparation des deux phases :

Au cours de cette phase, nous avons procédé à la dissolution de chaque composant dans un solvant approprié, c'est-à-dire la dissolution des composants hydrophiles dans la phase aqueuse et des composants lipophiles dans la phase huileuse (Cnokaert & Guillet, 2022).

La crème a été préparée comme suit

- Phase aqueuse : contient de l'eau de mer et d'un mélange de biomolécules marines (le chitosane, le collagène et de la poudre des huîtres et des nacres) dissoutes dans une solution aqueuse
- Phase huileuse : contient le squalène, et d'autres ingrédients. Le choix des ingrédients est basé sur le fait que ces produits sont non allergisants et ayant un pouvoir hydratant pour la peau.
- Facteur de consistance : cire N°3.
- Agent conservateur et antimicrobien : conservateur cosgard.
- Additifs : fragrances cosmétiques naturelle.

Dans un premier temps, nous avons procédé au nettoyage du matériel et des pots de conditionnement des pommades. Ensuite, nous les avons enveloppés de papier aluminium afin de les stériliser à l'autoclave (à 121,1°C pendant 20 minutes).

II.10.3.6 Préparation de la crème

Le protocole de préparation de la crème est illustré ci-après figure :

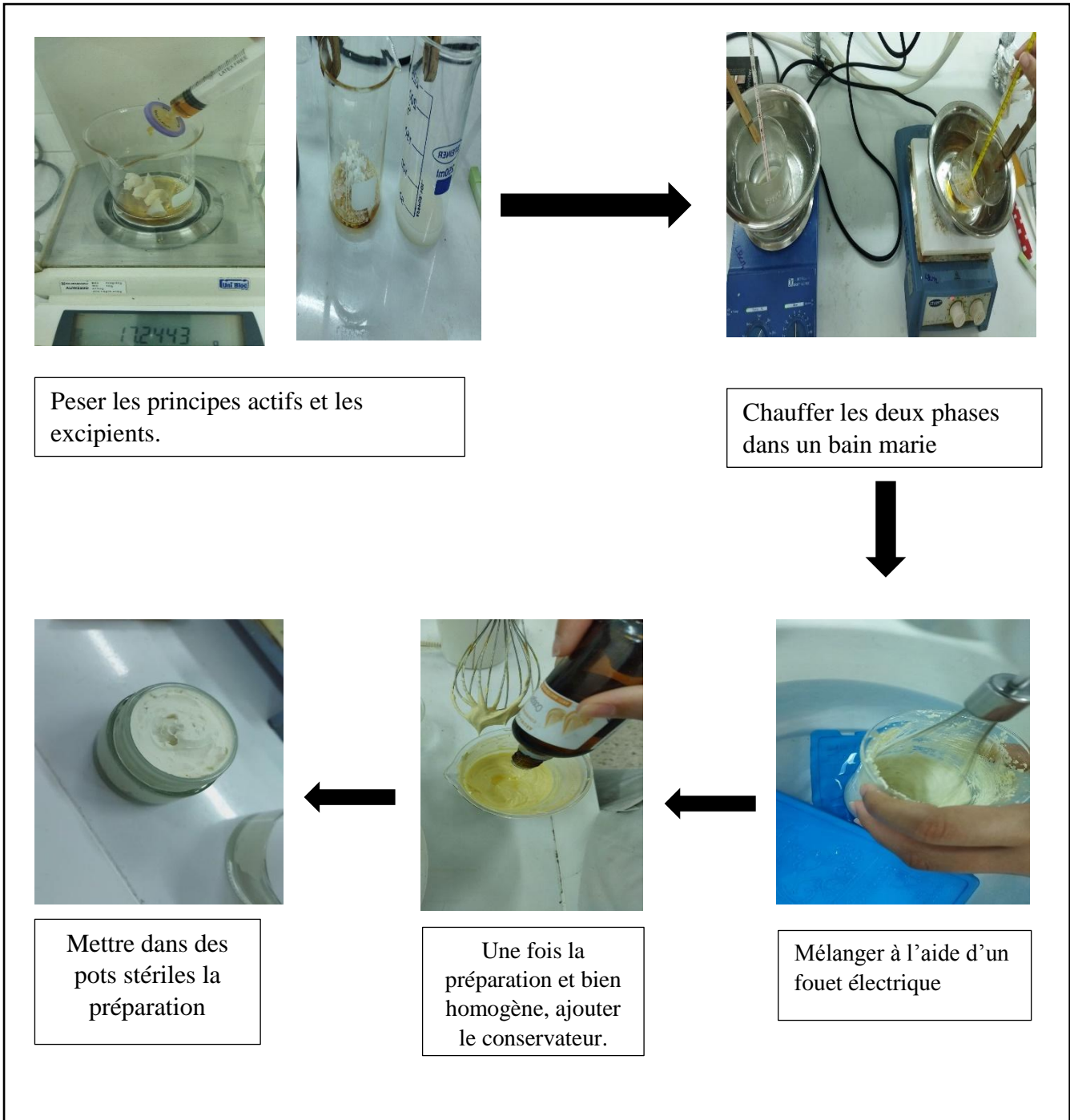


Figure II. 21: Etapes de préparation de la pommade contre le psoriasis

Caractéristiques physico-chimiques de la crème

II.10.4.1 Aspect macroscopique

L'aspect macroscopique d'une crème se réfère à ce que vous pouvez voir à l'œil nu. Cela inclut la texture et la consistance de la crème, sa couleur, son opacité et d'autres caractéristiques visibles sans avoir besoin d'un microscope.

II.10.4.2 Aspect microscopique

L'aspect microscopique d'une crème se réfère à ce que l'on peut observer à l'aide d'un microscope, notamment la structure interne de la crème, la présence de particules, de cristaux, de micro-organismes et la disposition des minuscules gouttelettes d'huile ou de graisse dispersées dans la phase aqueuse de la crème. Cela permet de mieux comprendre la composition, la stabilité et l'efficacité de la crème.

II.10.4.3 Stabilité à la centrifugation

La stabilité à la centrifugation est un test couramment utilisé pour évaluer la stabilité des émulsions, y compris les crèmes. Il consiste à soumettre un échantillon de crème à une force centrifuge, simulant ainsi les forces auxquelles la crème pourrait être exposée pendant son stockage ou son utilisation.

Objectif : Le test de stabilité à la centrifugation vise à déterminer si la crème conserve sa structure émulsionnée pendant le stockage. Si une crème se sépare en phase aqueuse et en phase lipidique après la centrifugation, elle peut être considérée comme instable, ce qui peut entraîner une perte d'efficacité et de qualité du produit.

Le test de stabilité s'effectue comme suit :

- Un échantillon de crème est placé dans des tubes à centrifuger.
- Les tubes sont ensuite soumis à une centrifugation
- Après la centrifugation, les tubes sont retirés de la centrifugeuse, et l'aspect de la crème est examiné visuellement.

II.10.4.4 Homogénéité et distribution

L'homogénéité signifie que la crème est mélangée de manière uniforme partout, de sorte qu'elle a la même apparence et la même composition partout.

La distribution concerne la manière dont les petits morceaux ou les ingrédients sont répartis à l'intérieur de la crème, comme des gouttelettes d'huile. Une bonne distribution signifie qu'ils sont répartis de manière égale.

En résumé, l'homogénéité concerne l'apparence globale, tandis que la distribution concerne la répartition des petits éléments à l'intérieur de la crème.

Pour évaluer l'homogénéité et la distribution de la crème :

- On étale une petite quantité sur une lamelle puis on la visualiser a l'œil nu ou bien à l'aide d'un microscope optique.

II.10.4.5 Détermination du pH

La détermination du pH d'une crème est essentielle pour évaluer sa compatibilité avec la peau, garantir son efficacité et maintenir la stabilité de la formulation. Cela permet de s'assurer que la crème respecte les normes de qualité et de sécurité.

Pour mesurer le pH d'une crème, un pH-mètre ou des bandelettes indicatrices de pH sont utilisés. Une petite quantité de crème est prélevée, mélangée avec de l'eau si nécessaire, et le pH est mesuré à l'aide du pH-mètre ou en trempant la bandelette dans le mélange.

II.11 Contrôle de qualité microbiologique des produits préparés.

Les tests de qualité microbiologique selon la pharmacopée européenne :

II.11.1 Dénombrement des germes aérobies totaux et des levures et moisissures totales DGAT et DMLT

Mode opératoire :

- Faire fondre au bain marie à 100°C le milieu gélosé PCA et la gélose Sabouraud dextrose en desserrant légèrement les fermetures dans le bain marie en surfusion à 45°C ;
- Préparer une solution de 1g du produit à tester dans 9ml de la solution tampon péptonée au chlorure de sodium pH 7 (solution A) ;
- Préparer une solution de 1g du produit à tester dans 9ml de peptones de caséine et de soja (TSB), puis incubés à 33°C pendant 24 h. (échantillon B) ;
- Agiter jusqu'à homogénéisation complète ;
- Prélever 1ml de la solution A préparée et déposer chaque prélèvement dans une boîte de Pétri de 90 mm de diamètre ;
- Couler dans 2 des 4 boîtes de Pétri destinées au DGAT 15ml à 20ml du milieu gélosé PCA, et dans les 2 boîtes restantes destinées au DMLT 15 à 20ml de gélose Sabouraud dextrose ;
- Agiter doucement les boîtes par un mouvement circulaire pour assurer un mélange homogène de l'échantillon et la gélose, sans faire de bulles et sans mouiller les couvercles des boîtes ;
- Incuber les boîtes PCA à 30-35°C pendant 3-5 jours et les boîtes Sabouraud dextrose à 20-25°C pendant 5-7 jours.

II.11.2 Recherche d'*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Salmonella*.

Mode opératoire :

Escherichia coli :

- 1 ml de l'échantillon A, est transféré dans 100 ml du milieu TSB et incubé à 35°C pendant 24h, puis 1 ml du milieu est transféré dans 100 ml du milieu liquide de Mac ConKey (MCB), et incubé à 44 °C pendant 48 h. Un volume de 0.1 ml est ensemencé sur des boîtes de pétri contenant préalablement, le milieu gélosé de MacConKey (MCA). L'incubation est faite à 33°C pendant 72 h.

Pseudomonas aeruginosa

- Repiquer sur gélose cétrimide 0,1 ml de la solution A et incubé à 30-35°C pendant 18 à 72h pour la recherche de *Pseudomonas aeruginosa* ;

Staphylococcus aureus

- Repiquer sur gélose Chapman 0,1 ml de la solution A et incubé à 30-35°C pendant 18 à 72h pour la recherche de *Staphylococcus aureus* (Butin & Provence, 2022).

Salmonella

0.1ml de l'échantillon B a été transféré dans 10 ml du milieu liquide d'enrichissement Rappaport-Vassiliadis (RVB) ou milieu SFB, et incubé à 33°C pendant 24 h, après ce temps un repiquage a été réalisé sur une boîte gélose SS ou milieu Hektoen et incubé à 33°C pendant 48 h.

II.12 Tests de toxicité DL50 des compléments alimentaires

Les tests de sécurité pour les compléments alimentaires varient en fonction des réglementations en vigueur dans chaque pays.

Évaluation de l'innocuité des ingrédients : Les fabricants de compléments alimentaires doivent généralement prouver que les ingrédients utilisés sont sûrs pour la consommation humaine. Cela peut impliquer des études toxicologiques pour déterminer les doses sans effet nocif observable (NOAEL) et éventuellement la dose létale médiane (DL50) sur des animaux de laboratoire.

II.12.1 Définition

La DL50, ou dose létale médiane, est une mesure de la toxicité d'une substance, généralement exprimée en termes de la quantité de cette substance nécessaire pour causer la mort de la moitié d'un groupe d'organismes ou d'individus exposés à cette substance au cours d'une période définie. La DL50 est couramment utilisée en toxicologie pour évaluer la toxicité

aiguë d'une substance, c'est-à-dire son potentiel à causer des effets toxiques graves à court terme.

La DL50 est généralement exprimée en milligrammes de substance par kilogramme de poids corporel (mg/kg) pour les études animales ou en microgrammes par litre ($\mu\text{g/L}$) pour les études in vitro. Par exemple, une DL50 de 100 mg/kg signifie que 100 milligrammes de la substance par kilogramme de poids corporel sont exposés meurent.

II.12.2 Modes opératoires

1-préparation des souris

- Peser les rats (poids 200 g).
- Coloration (tête, queue).
- Remplir la fiche de la boîte (la date, les pois, type et le nom du test)
- Préparer 6 lots et dans chaque lot 4 rats



Figure II .22 : étapes de préparation des rats

2- Calcul des quantités de substance : Pour calculer la quantité exacte de la substance nécessaire pour chaque groupe de rats, vous devez connaître le poids moyen des rats dans chaque groupe. Créez 5 groupes (Lots) injecté avec des doses qui augmentent progressivement et un groupe de contrôle: un groupe de souris qui ne reçoit aucune ne dose de la substance testée (groupe témoin) pour servir de comparaison.

Lot 1 : 50 mg/kg, 12,5 mg par rat,

Lot 2 : 500 mg/kg, 125 mg par rat,

Lot 3 : 1000 mg/kg, 2500 mg par rat,

Lot 4 : 5000 mg/kg, 1250 mg par rat,

Groupe5 : 15000 mg/kg, 3750 mg par rat.

Préparation des doses : Les quantités calculées sont ensuite préparées en fonction de la voie d'administration (gavage) en utilisant une solution appropriée de la substance testée. Vous devez vous assurer que la concentration de la solution est correcte pour délivrer la dose souhaitée.

Administration de la substance : Les doses préparées sont administrées par gavage aux rats en utilisant des sondes d'alimentation ou des canules gastriques pour garantir une administration



précise.

Suivi et observation : Après l'administration de la substance, les rats sont surveillés attentivement pour détecter tout signe d'effets indésirables. Les observations peuvent être effectuées à intervalles réguliers.

Collecte de données : **Figure II.23 : étape d'injection ou de gavage des rats** administrées et les effets observés, sont collectées et analysées pour évaluer la toxicité potentielle de la substance.

II.13 Contrôle de qualité de la crème

II.13.1.1 Test de tolérance cutané

Objet

Le test de tolérance cutanée a pour but de prédire à partir de la connaissance de la toxicité sur un organisme vivant, le risque de toxicité chez l'homme.

II.13.1.1.1 Méthodes

- Préparation des animaux :

La procédure est effectuée sur six lapins de race Néozélandaise ou Californienne, qui subissent une tonte du dos et des flancs à l'aide d'un rasoir à lame interchangeable conçu à des fins vétérinaires(LSCV, 2013).



Figure II.24: étape de préparation des lapins pour le test de tolérance cutanée

Ensuite, le dos de chaque animal est séparé en deux régions après l'épilation des poils. Nous conservons 06 lapins pour le produit qui ont une peau saine et lisse pour la suite de l'essai (Guillot & *al.*, 1979).

- Application du produit

Le rasage s'effectue 24heurs avant l'application. L'expérience est menée dans un environnement calme et dépourvu de toute source de perturbation susceptible de causer du stress aux animaux.

- Le flanc droit est divisé en deux zones, sur l'une des zones la crème est appliquée directement (LSCV, 2013), l'autre flanc côté essai est scarifié par trois incisions parallèles de 3cm de long espacées d'environ 0.5cm. Les scarifications doivent être réalisées sans atteindre le derme c'est-à-dire sans saignement (Guillot & al., 1979).
- on dépose la crème sur les deux côtés scarifiés et non scarifiés.
- On place une compresse stérile sur la zone où la crème est appliquée, puis on enroule la gaze autour du dos du lapin, en la faisant passer sur les deux flancs. Ensuite, la gaze est recouverte d'un pansement qui n'est pas hermétique.

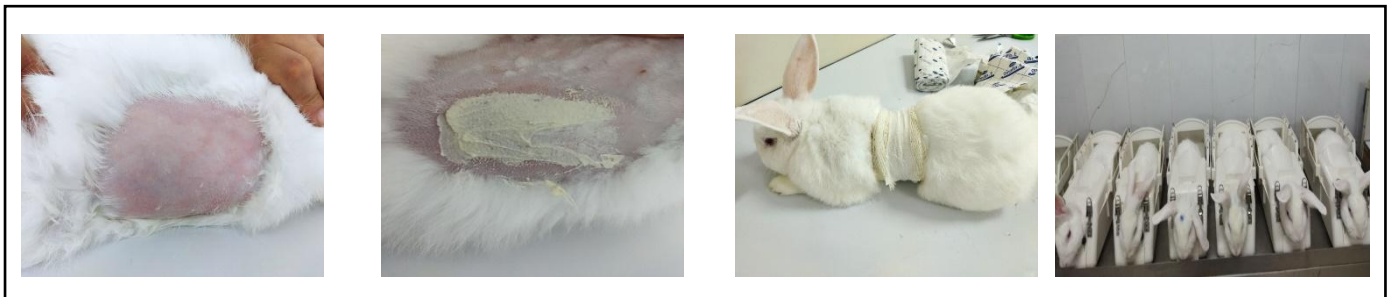


Figure II.25 : étape d'application de la crème sur les lapins

- Observation :

Après 24 heures, les pansements sont retirés. Les résultats sont examinés après une demi-heure par au moins deux observateurs différents, et une deuxième évaluation est réalisée 72 heures après l'application du produit (Guillot & al., 1979). Ces évaluations consistent à noter l'apparition d'érythème et d'œdème en utilisant une échelle numérique définie : **(Tableau II.6)**

Tableau II.6 : Echelle numérique de l'érythème et de l'œdème (Guillot & al., 1979).

ERYTHEME	Pas d'érythème	0
	Léger érythème (à peine visible)	1
	Erythème bien visible	2
	Erythème important	3
	Erythème grave (rouge pourpre) avec ou sans escarres (lésions profondes)	4
OEDÈME	Pas d'œdème	0
	Très léger œdème (à peine visible)	1

	Léger œdème (conditions bien définies, gonflement apparent)	2
	Œdème moyen (épaisseur d'environ 1 mm)	3
	Œdème grave (épaisseur supérieure à 1 mm)	4

II.13.1.1.2 Détermination de l'indice d'irritation primaire cutanée

Le système de notation des observations permet de déterminer un indice d'irritation primaire cutanée (IPC). Pour calculer cet indice, les chiffres attribués à l'érythème et à l'œdème sont additionnés à chaque intervalle de temps (24 heures et 72 heures après l'application) pour les 6 zones soumises à une scarification et les 6 autres zones non scarifiées. Ensuite, la moyenne des résultats observés est calculée (LSCV, 2013).

$$IP = \frac{\sum(24h(E; Oe) + 72h(E, Oe))}{24}$$

E : érythème.

Oe: Œdème

La moyenne des notes obtenues constitue l'indice d'irritation primaire cutanée IP. Celui-ci permet de classer le produit en (04) types :

- Interprétation :

Non irritant	IP < 0.5
Légèrement irritant	0.5 ≤ IP < 2
Irritant	2 ≤ IP < 5
Très irritant	5 ≤ IP < 8

Chapitre III: Résultats et discussions

III. Chapitre III : Résultats et discussions

III.1 Identification des espèces

L'identification des espèces de crustacés est basée sur plusieurs critères distinctifs décrits dans la fiche FAO (Fischer, 1987).

Pour les crevettes, c'est la morphologie du rostre et du telson qui est prise en considération. Les espèces identifiées sont les suivantes. **(Figure III.1)** - *Parapenaeus longirostris* (crevette rose) - *Aristeus antennatus* (crevette rouge) Les deux espèces présentent un corps lisse et mou avec la présence de petites pinces aux trois premières paires de pattes. On distingue une coloration rouge pâle avec un rostre légèrement dentée chez *Aristeus antennatus* (Risso, 1816); et une couleur rose orangée avec un rostre recourbé en haut avec 8 dents, ainsi qu'un telson se terminant par 3 grandes dents, aiguës et fixes chez *Parapenaeus longirostris* (Lucas, 1846).**(Figure III.26 A, B)**

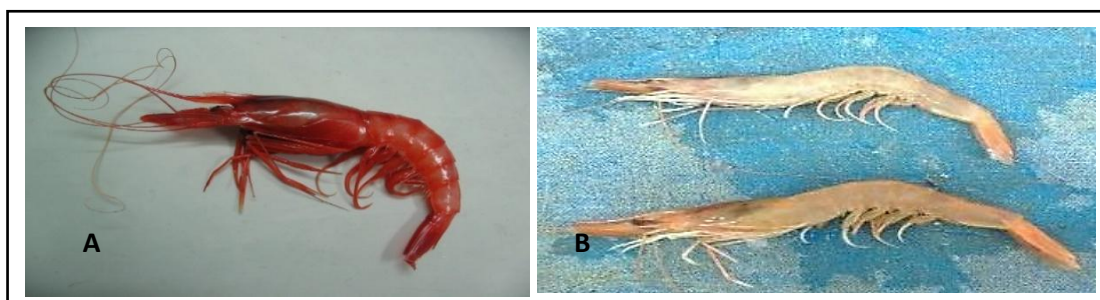


Figure III.26 : Espèces de crevettes identifiées. *Aristeus antennatus* (A), *Parapenaeus longirostris*(B)

Bivalves

Magallana gigas (Lamarck, 1818)

Coquille très variable mais tendant à être oblongue et nettement plus haute que large à valve gauche profonde. Sculpture externe avec des plis et des stries lamelleuses concentriques, et quelques côtes radiales irrégulières séparées par de larges sillons qui affectent la commissure des valves. Empreinte abductrice ovale, à bord dorsal en général subrectiligne, plus proche de la marge ventrale du test que de la charnière Pas de chomata.

Coloration blanchâtre à brunâtre extérieurement, avec des macules plus ou moins rayonnantes brun violacé; intérieur luisant et blanchâtre, souvent teinté de brun-rouge ou de violacé sur l'empreinte abductrice et avec des zones irrégulières blanc craqueux. **(Figure III.27)**

Anomia ephippium (Linnaeus, 1758)

Coquille de forme variable et irrégulière, inéquivalve adhérant étroitement au substrat par un byssus salcifile et passe dans une échancrure de la valve droite à allure de perforation. Valve

gauche (supérieure convexe, valve droite (inférieure) aplatie. Charnière édentule, asymétrique Ligament interne. Logé dans une fossette transverse à la valve gauche et sur une protubérance saillante à la valve droite. Intérieur, plus ou moins nacré, avec une aire centrale épaissie. Une seule empreinte adductrice à chaque valve, valve gauche avec on plus, une ou deux. (**Figure III.27**)

Empreintes rétractrices (du byssus, et parfois du pied) englobées dans l'aire centrale. Pas de sinus palléal. Branchies de type fibranche, à branchie droite déportée vers le bas par le byssus. Pied petit. Manteau sans suture. Sexes séparés, à gonades asymétriques. Espèces



suspensivores.



Figure III.27 : *Magallana gigas*

Figure III.28 : *Anomia ephippium*

III.2 Détermination de la composition biochimique globale des coproduits (Carapace de crevettes, coquilles des huitres et l'os de seiche).

III.2.1 Composition biochimique globale des carapaces de crevettes

La composition biochimique du mélange des coproduits de crevettes *Parapenaeus longirostris* et *Aristeus antennatus* est présentée dans le tableau III.7 et la figure III.29 et elle est comparée à celles décrites par les études antérieures.

Tableau III.7: Données comparatives de la composition biochimique globale des coproduits de crevettes

Teneurs (%)/	Présente étude	(MEGHIT et ZOUGARI, 2022)	(HERGUEMA et KHIAT, 2022)	(Guesmi et Hennous, 2021)	(Haddab et Kortbi, 2020)
Teneur en eau (%)	16.9	19.38	10.11	11.57	14.61
Teneur en minéraux (%)	45	49.75	49.5	39.88	37.49

Teneur en protéines (%)	7.56	9.9	7.13	8.3	28.96
Teneur en lipides (%)	7.04	6	4.82	11.04	6.99

III.2.1.1 Taux d'humidité (Teneur en eau)

Au regard du tableau III.7, La teneur en eau du mélange des coproduits de crevettes (*Parapenaeus longirostris* et *Aristeus antennatus*), est de 16.9% du poids sec, cette valeur est inférieure à la valeur de MEGHIT et ZOUGARI (2022) (19.38%) et supérieure à celle mentionnée par HERGUEMA et KHIAT (2022) (10.11%) et HADDAB and KORTBI (2020) (14,61%) ainsi que celle mentionnée par (GUESMI and HENNOUS (2021) (11,57%) ayant travaillé sur la crevette rose uniquement (*Parapenaeus longirostris*)

III.2.1.2 Teneur en matière minérale

En ce qui concerne la teneur en minéraux, la valeur mesurée s'élevait à 45%. Cette mesure dépasse celles rapportées par HADDAB et KORTBI (2020) pour les mêmes espèces, qui étaient de 37,49%, ainsi que GUESMI et HENNOUS (2021) pour *Parapenaeus longirostris* uniquement, la valeur était à hauteur de 39.88 % mais ce taux est inférieur à celui obtenu par e MEGHIT et ZOUGARI (2022) (49.758%) et HERGUEMA et KHIAT(2022) (49.5%).

III.2.1.3 Teneur en lipides

Les carapaces de crevettes présentent une faible teneur en composés lipidiques, comme le montre le tableau III-2. La valeur mesurée (7,04%) concorde avec les résultats obtenus par MEGHIT et ZOUGARI (2022) (6%) ainsi que par HADDAB and KORTBI (2020) (6,99%). En revanche, cette valeur est nettement inférieure, environ la moitié, par rapport à celle rapportée par GUESMI and HENNOUS (2021) (11,04%). Cependant, elle est supérieure à la valeur enregistrée par HERGUEMA et KHIAT (2022) (4,82%).

III.2.1.4 Teneur en protéines

La teneur en protéines de l'échantillon s'élève à 7,56 %, ce qui est similaire aux résultats obtenus par HERGUEMA et KHIAT (2022) (7,13 %) ainsi qu'à ceux rapportés par GUESMI and HENNOUS (2021), qui sont de 8,3 %. Cependant, cette valeur est inférieure à celle enregistrée par MEGHIT et ZOUGARI (2022) (9,9 %), et représente moins d'un quart des taux rapportés par HADDAB and KORTBI (2020) (28,96 %).

La notable disparité de teneur en protéines observée peut être attribuée probablement à une extraction minutieuse et à un nettoyage soigné de la matière première. Au cours du processus de nettoyage, toute la chair adhérant à la carapace et au telson a été retirée dans le but de faciliter et d'optimiser l'étape ultérieure de déprotéinisation.

L'échantillon actuel était principalement composé de têtes de crevettes, avec une prédominance de la partie abdominale de la carapace. Une étude comparative menée par Ravoninjatovo & al, (2015) a révélé que les têtes de crevettes sont plus riches en protéines que les carapaces. Une autre étude réalisée par Randriamahatody et al., (2011) a montré des taux de protéines très élevés dans les têtes de crevettes, atteignant environ 57 %.

Il est courant d'observer des variations dans la composition biochimique de la chair et des coproduits d'animaux aquatiques au sein d'un même individu. Ces variations peuvent être influencées par des facteurs tels que l'espèce, le sexe, l'âge, les saisons et les conditions environnementales. Les crevettes muent à mesure qu'elles grandissent, ce qui signifie qu'elles doivent régulièrement reconstituer un nouvel exosquelette, ce qui peut entraîner des fluctuations dans leur composition biochimique.

En résumé, les résultats de cette étude indiquent que les coproduits de crevettes, résultant de la combinaison de deux espèces, présentent des taux élevés en cendres, suivis de protéines et de lipides-pigments. Par déduction, ce qui reste représente probablement la fraction chitineuse des crustacés (voir **Figure III.29**).

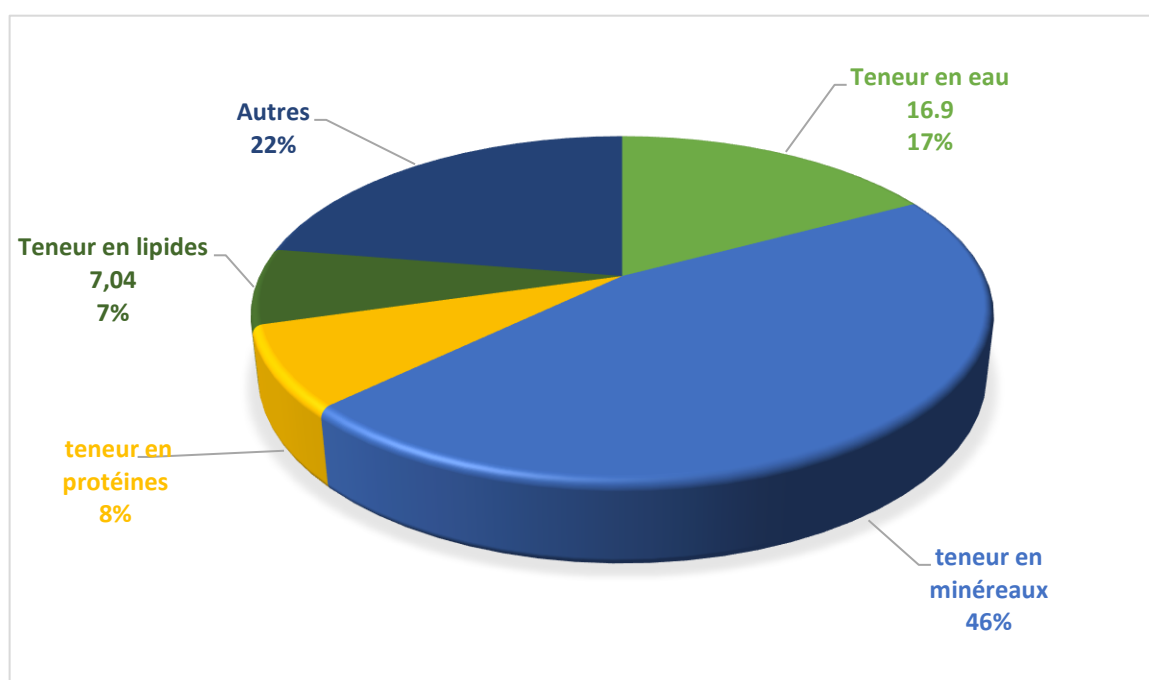


Figure III.29 : Composition biochimique globale du mélange des coproduits de crevettes exprimée en pourcentage par rapport à la matière sèche (MS)

III.2.2 Composition biochimique globale des coquilles des huitres et d'*Anomia ephippium*, l'os de seiche

La composition biochimique globale des coquilles des bivalves et des os de seiche est consignée dans le tableau III.8 et les figures III.30, III.31, III.32.

Tableau III.8 : Données comparatives de la composition biochimique globale des coquilles des huitres, l'os de seiches et *Anomia ephippium* :

Teneurs (%)	Coquille des huitres	Os de seiche	<i>Anomia ephippium</i>
Teneur en eau (%)	3.67	0.98	0.99
Teneur en minéraux (%)	88	90	78.9
Teneur en protéines (%)	5	8.3	10
Teneur en lipides (%)	0.079	0.01	0.08

III.2.2.1 Taux d'humidité (Teneur en eau)

Il est important de noter que la faible teneur en eau dans ces parties des animaux marins les rend relativement stables et résistantes à la détérioration.

III.2.2.2 Teneur en matière minérale

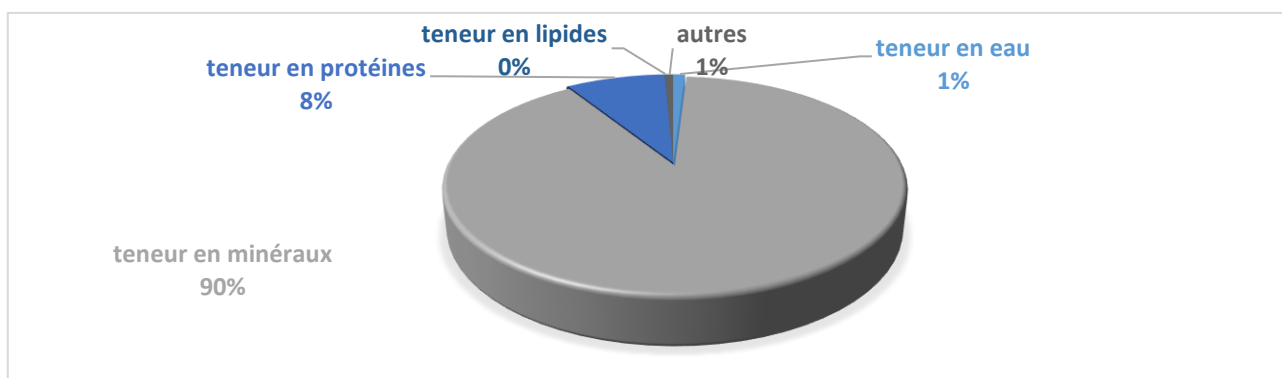
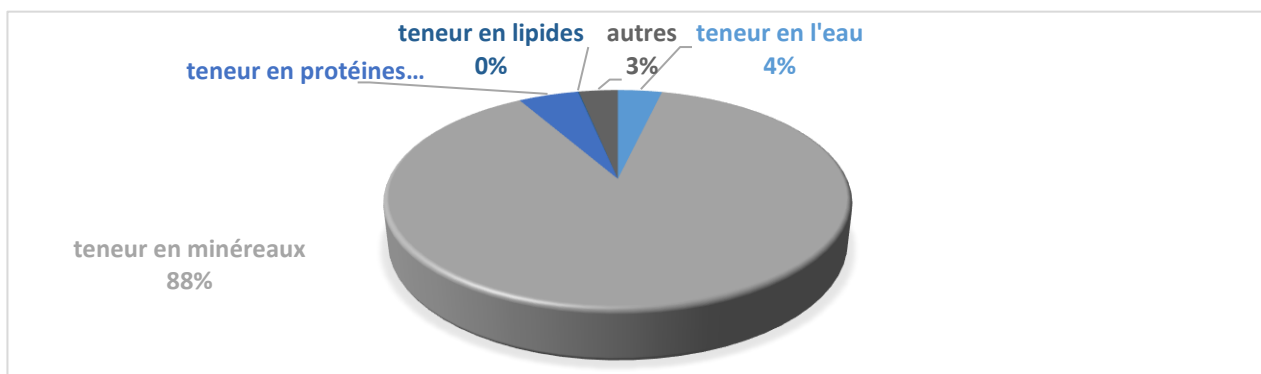
La quantité de matière minérale présente dans les coquilles d'huîtres, les os de seiche et *Anomia ephippium* est significativement élevée, atteignant respectivement 88%, 90% et 78,9%.

III.2.2.3 Teneur en lipides

La teneur en lipides dans l'os de seiche et les coquilles d'huîtres est généralement faible, car ces parties des animaux marins sont principalement composées de matériaux minéraux, tels que le carbonate de calcium. Cependant, la teneur exacte en lipides peut varier en fonction de plusieurs facteurs, tels que l'espèce, la région géographique de récolte et les conditions environnementales.

III.2.2.4 Teneur en protéines

Il est important de noter que les os de seiche et les coquilles d'huîtres ne sont généralement pas consommés pour leur teneur en protéines, mais plutôt pour d'autres utilisations



pourcentage par rapport à la matière sèche (MS)

Figure III.31 : Composition biochimique globale de l'os de seiche exprimée en pourcentage par rapport à la matière sèche (MS)

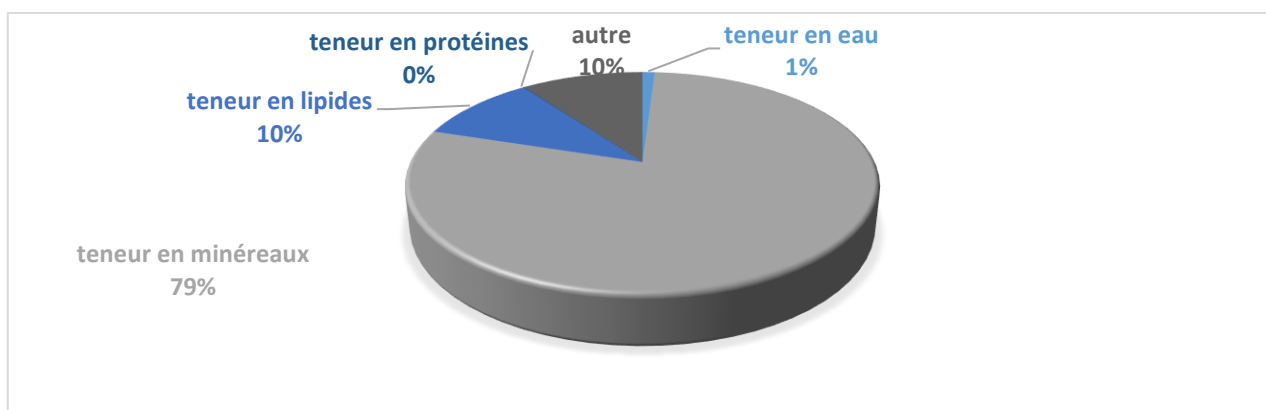


Figure III.32 : Composition biochimique globale d'*Anomia ephippium* exprimée en pourcentage par rapport à la matière sèche (MS)

III.2.3 Composition minérale des coproduits

III.2.3.1 L'analyse par XRF

La composition minérale des coproduits en particulier les carapaces de crevettes des espèces *Parapenaeus longirostris* et *Aristeus antennatus*, coquilles des huitres, l'os de seiches et d'*Anomia ephippium* a été déterminée. L' XRF (fluorescence des rayons X) pour identifier les éléments minéraux présents dans ces échantillons.

Les résultats de cette analyse sont illustrés dans les figures- ci-dessous (III.33 à III.36).

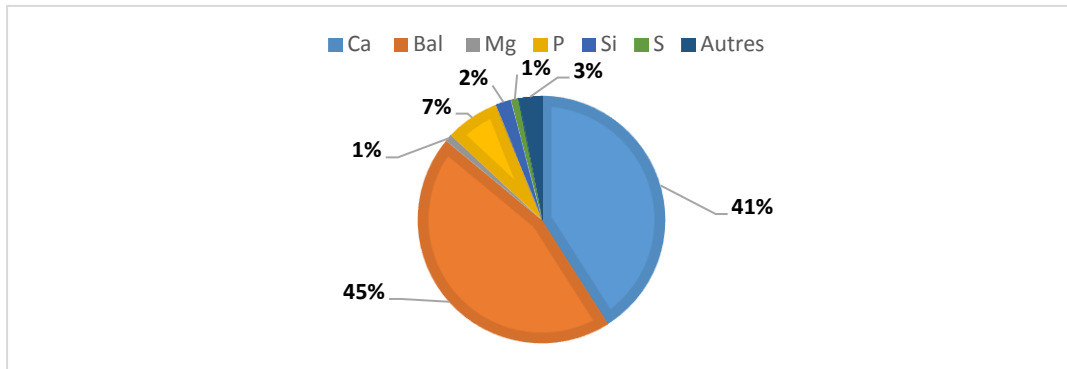


Figure III.33 : Composition en minéraux des carapaces de crevettes

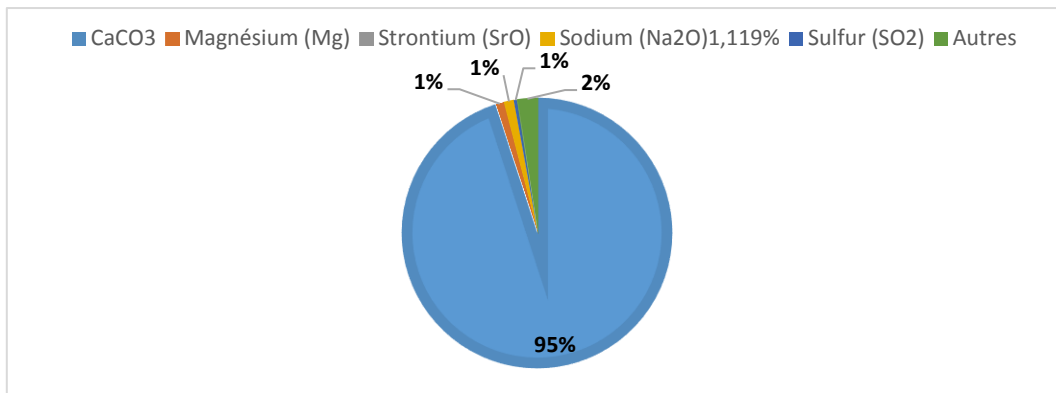


Figure III.34 : Composition en minéraux des coquilles des huitres.

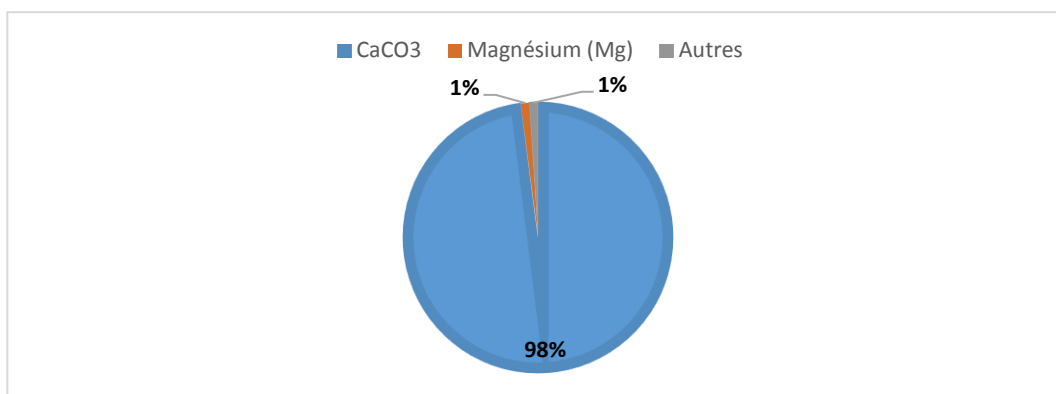


Figure III.35 : Composition en minéraux de l'os de seiches.

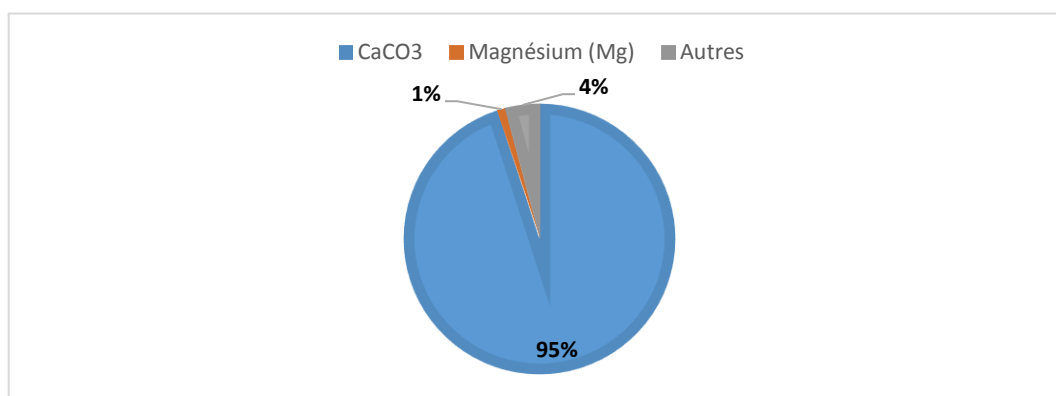


Figure III.36 : Composition en minéraux des d'*Anomia ephippium*.

III.2.3.2 Teneur en carbonates de calcium des carapaces de crevettes, des coquilles d'huitres, des pelures d'oignon et des os de seiche

Les teneurs en carbonates de calcium des coproduits issus de la pêche et de l'aquaculture Cultmar sont illustrées dans la figure III.37

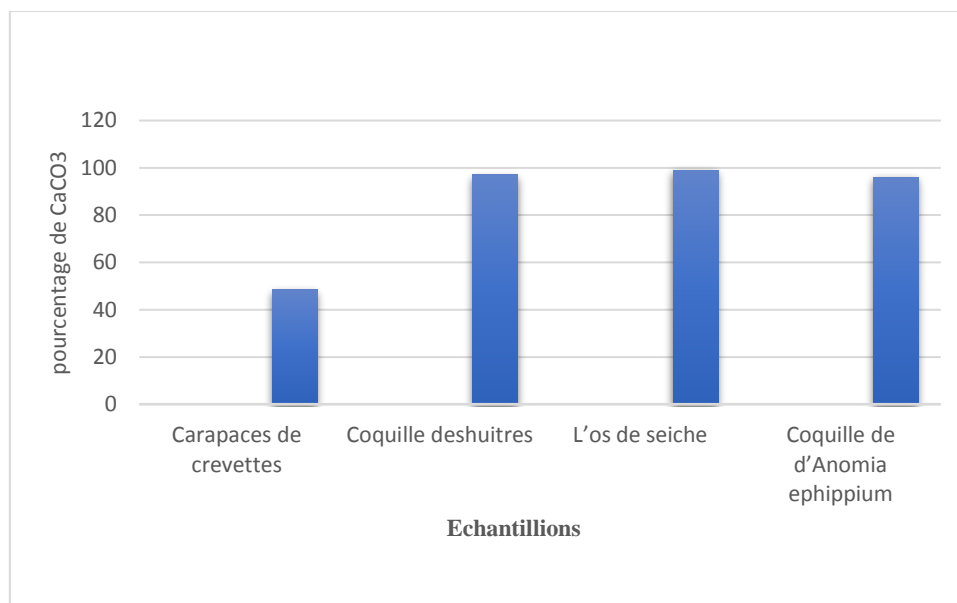


Figure III-37 : Teneurs en carbonates de calcium des coproduits issus de la pêche et de l'aquaculture « Cultmar »

Au regard de la **figure III.37**, on constate que les os de seiche contiennent le plus de carbonate, suivi par les coquilles des bivalves et en fin des carapaces de crevettes.

Selon Le Roy & *al*, (2021), globalement, l'élément calcium domine dans la structure des huîtres analysées. La coquille est constituée de près de 90 % de carbonate de calcium (toutes espèces confondues). D'autres éléments sont présents : le soufre, le sodium, le magnésium, l'aluminium, la silice, le strontium, le fer... Ces éléments peuvent provenir de l'environnement extérieur, de la matrice organique présente autour de la structure solide en CaCO₃ du coquillage ou encore d'impuretés (reste de matière organique ou impuretés lors de la prise de l'échantillon) »

En ce qui concerne les carapaces de crevettes, les résultats obtenus au cours de cette étude se rapproche de ceux enregistrés par Haddab & Kortbi (2020) qui était de l'ordre de 45%.

Le Roy M., Ciblac M., Couton M. et Gaudilliere (2021). Étude de valorisation de la coquille d'huître sous forme de poudre pigmentaire - Un gofun d'origine aquitaine. ENSAPM – Département Transitions – Séminaire de recherche – Année 2020-2021

L'os de seiche est fait d'aragonite qui est une espèce minérale de la famille des carbonates de formule CaCO₃ avec des traces de Sr ; de Pb, de Fe, de P, de Cu et de Zn.

On retrouve également en faible quantité de la matière organique. Ses propriétés contribuent à une reminéralisation profonde de l'organisme. Elle constitue aussi la nacre et les perles d'huîtres, moules ou autres coquillages, et une partie du squelette de la plupart des coraux durs et les récif coralliens. Cette molécule se transforme lentement en calcite. Les coquillages sont généralement formés pour moitié de calcite et pour l'autre moitié d'aragonite.

La poudre brute des coquilles est utilisée dans le traitement de dysenterie et comme apport minéral et vitaminique dans l'alimentation du bétail. (Cheikh, 2007)

III.3 Caractérisation du chitosane produit.

Pour évaluer le rendement de l'extraction du chitosane, ainsi que pour évaluer sa qualité en termes de teneur en protéines et de résidus de matière minérale, plusieurs analyses ont été réalisées. Ces analyses comprenaient la solubilisation du chitosane dans un acide dilué, ainsi que la détermination du degré de désacétylation du chitosane. Cette détermination a été effectuée par la méthode FTIR. Ces mesures ont été prises dans le but d'évaluer la pureté et la qualité du chitosane extrait.

III.3.1 Rendement massique.

À partir de 200 g de poudre de crevette, 29 g de chitosane ont été obtenus

Le rendement massique du chitosane obtenu après déminéralisation, déprotéinisation et désacétylation des coproduits de crevettes), est de 14, % (Figure III.38 et Tableau III.9).

La valeur obtenue est plus élevée que celles obtenues par d'autres études, telles que celle de MEGHIT & ZOUGARI (2022) qui a rapporté 11 %, ainsi que celle de HERGUEMA & KHIAT (2022) qui a également trouvé 11 %.

De plus, la valeur obtenue est supérieure à celle rapportée par HADDAB and KORTBI (2020) qui était de 11.13 %. De même, elle dépasse également la valeur mentionnée dans l'étude de GUESMI and HENNOUS (2021) qui était de 9.6 %.)

Tableau III.9: Rendement massique du chitosane obtenu à partir des coproduits de crevettes rapportés dans la littérature :

	Présente étude (crevettes)	(MEGHIT et ZOUGARI, 2022)	(HERGUEMA et KHIAT, 2022)	(Guesmi et Hennous, 2021)	(Haddab et Kortbi, 2020)
Rendement d'extraction%	14.5	11	11	11.13	9.6

D'après Özogul & al. (2018), les rendements massiques du chitosane varient en fonction de plusieurs paramètres, notamment la méthode d'extraction, l'espèce de départ, les saisons, ainsi que les conditions environnementales comme les zones de pêche.



Figure III.38 : Pesée du chitosane produit à partir de 400 g des carapaces de crevettes

III.3.2 Solubilité

Le chitosane obtenu à partir des carapaces de crevettes présente une parfaite solubilité dans une solution d'acide acétique à 0.1 %. Cette solution se caractérise par sa transparence et une viscosité significative, comme illustré dans la **Figure III.39**

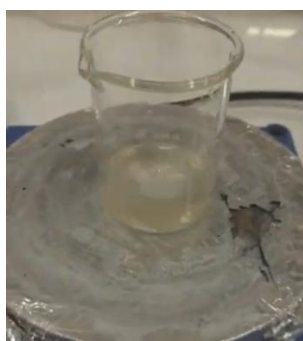


Figure III.39 : Solubilisation du chitosane extrait de crevettes dans l'acide acétique

Cette observation indique également que le processus de désacétylation de la chitine a été mené à bien avec succès montre soluble dans des acides faiblement dilués tels que l'acide acétique, l'acide lactique ou l'acide citrique. Les groupes aminés du chitosane subissent une protonation et acquièrent une charge positive à partir d'un pH de 3. En conséquence, le chitosane devient soluble et cationique lorsque le pH est inférieur au pKa intrinsèque de la fonction amine du chitosane, qui est d'environ 6,3. Toutefois, à un pH supérieur à 6,5, ces groupements ne sont plus ionisés, entraînant la précipitation du chitosane (Rinaudo & *al.*, 1993).

III.4.3 Caractérisation biochimique

Afin d'évaluer l'efficacité des traitements de déminéralisation et de déprotéinisation appliqués aux coproduits de crevettes, la teneur du chitosane en protéines et cendres

résiduelles a été déterminée. Les résultats sont consignés dans le tableau ci-après (**Tableau III.9**).

Tableau III.9 : Degrés de déminéralisation et de déprotéinisation du chitosane produit.

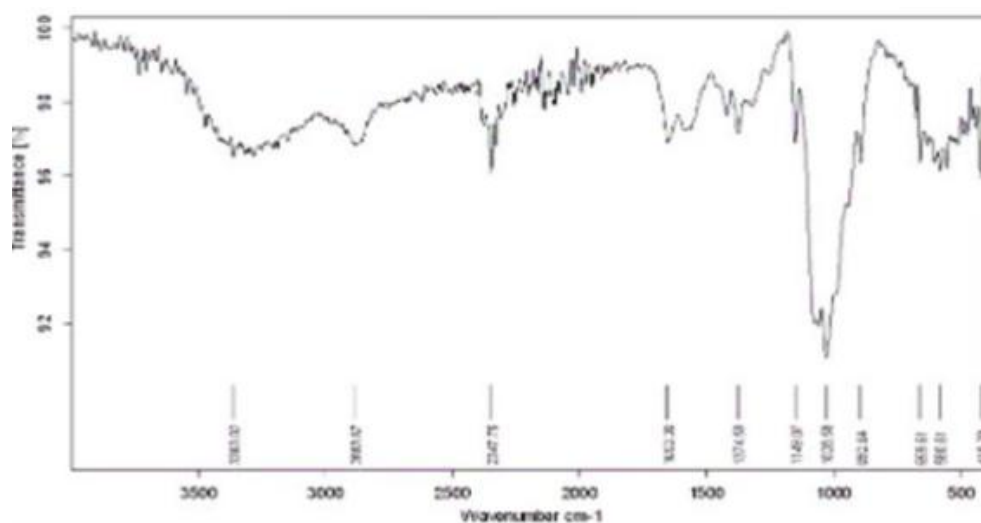
	Chitosane produit
DM (%)	81.8
DM (%)	55

L'attaque acide de la poudre de crevettes a permis une déminéralisation de l'ordre de 81.8%. Ce taux résiduel est nettement supérieure à ceux rapportés par MEGHIT & ZOUGARI (2022) qui était de 23,35 % et par HADDAB & KORTBI (2020) qui était de 53,31%. En revanche, le degré de déminéralisation enregistré par et GUESMI and HENNOUS (2021) était de (100%), soit une élimination totale des matières minérales.

III.3.3 Degré de désacetylation.

III.3.3.1 Spectrophotométrie infrarouge (FTIR).

La FTIR a été réalisée dans la gamme de fréquences 4000–500 cm⁻¹ sur des pastilles de KBr contenant le chitosane produit à partir des coproduits de crevettes. La caractérisation entraîne l'apparition d'une série de pics d'absorption qui sont représentés dans la **figure III.40**.



Les spectres révélés par la FTIR ont permis de mettre en évidence plusieurs liaisons caractéristiques du chitosane telles que : les liaisons (O-H) dans les régions 3300 et 1155cm^{-1} , les liaisons (C-H) dans les régions 2879cm^{-1} , 2922 et 2888cm^{-1} , les liaisons C=O aux pics 1660cm^{-1} , et aussi des liaisons (N-H) dans les régions 1643 , 1594cm^{-1} .

En se basant sur les spectres obtenus et en utilisant la formule mentionnée par Hafsa et *al.* (2016), le DDA du chitosane produit est de 98%, ce résultat est similaire à celui de MEGHIT & ZOUGARI (2022) qui a rapporté 98 %, ainsi que celle de HERGUEMA & KHIAT (2022) qui ont trouvé 94% et largement supérieur à ceux obtenus par HADDAB & KORTBI (2020) (80,12%), OULHIZ (2018) sur la crevette rose *Parapenaeus longirostris*, en utilisant deux méthodes chimiques (65% et 72,73%). (**Tableau III.10**)

Cette différence peut être due à la nature des solvants utilisés, leur degré de pureté, et aux conditions opératoires (Oulhiz, 2018).

Tableau III.10 : Degré de désacétylation du chitosane

	Présente étude FTR	(MEGHIT et ZOUGARI, 2022)	(HERGUEMA et KHIAT, 2022)	HADDAB and KORTBI (2020)	Oulhiz (2018)
Crevettes	98%	98%	94%	80,12%	72,34%

III.4 Mise en évidence du collagène extrait.

III.4.1 Test du biuret.

Trois essais ont été réalisés, comprenant un témoin négatif (utilisant de l'eau distillée), un témoin positif (utilisant la protéine de référence BSA) et l'échantillon contenant le collagène extrait. Les résultats ont révélé la formation d'un complexe mauve entre les ions cuivre II (Cu^{2+}) et les liaisons covalentes présentes dans le collagène extrait, comme illustré dans la **Figure III-41**.

Ce résultat confirme la présence de collagène, indiquant un résultat positif au test. Ces résultats sont cohérents avec les résultats précédemment rapportés dans les études menées par (Leblack, 2012, Oulhiz, 2018 & Lassoued & *al.*, 2020).



Figure III.41 : Mise en évidence de la présence du collagène avec la méthode de biuret.

III.4.2 Test xanthoprotéique.

De manière similaire, trois essais ont été conduits, comprenant un témoin négatif (utilisant de l'eau distillée), un témoin positif (utilisant la protéine de référence BSA) et l'échantillon contenant le collagène extrait. Les résultats ont révélé la formation d'un complexe jaune orangé ;

Ce qui reflète la réaction de nitration qui a eu lieu lors du chauffage du collagène avec de l'acide nitrique concentré (HNO_3), comme illustré dans **la Figure III.42** Ces observations indiquent un résultat positif au test de nitration.



Figure III. 42 : Résultat du test à la xanthoprotéine.

III.4.3 Rendement massique :

Le rendement massique du collagène extrait et lyophilisé est de 22.5%. La valeur obtenue est supérieure à celle rapportée par MEGHIT & ZOUGARI (2022) (21%), OULD RABAH & SAHNOUN (2022) (21%), LABALCK (2012) (19,53%) et elle est inférieure à celle relevée par NAGAI ET SUZUKI (2000) (50%).

III.4.4 Poids moléculaire du collagène déterminé Par SDS-PAGE

Le profil du collagène extrait des peaux de sole et de raie analysé par SDS-PAGE dans des conditions réductrices est illustré sur **la figure III.43**

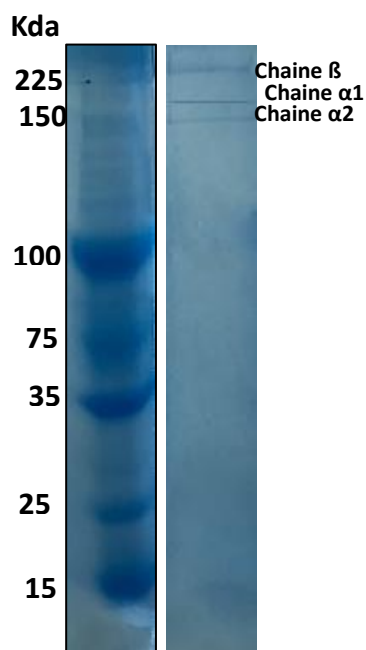


Figure III.42 : Profil électrophorétique du collagène extrait en présence de dodécyl sulfate de sodium. Piste 1: marqueurs de haut poids moléculaire ; piste 2 : collagène marin extrait (échantillon).

Le modèle SDS-PAGE a montré que le collagène obtenu à partir des peaux de sole et de raie se compose de deux chaînes α différentes ($\alpha 1$ et $\alpha 2$) avec un poids moléculaire compris approximativement entre 120 et 110 kDa et une chaîne β avec un poids moléculaire supérieur à 225 kDa. En effet ces résultats obtenus correspondent à la plupart des autres travaux rapportés dans la littérature (Nagai & Suzuki, 2004, Jongjareonrak & *al.*, 2005, Kittiphattanabawon & *al.*, 2005)

III.5 Caractérisation de l'huile extraite

III.5.1 Rendement d'extraction de l'huile et test de tache

À partir de 500g de tête d'espadon, 166.9 g d'huile ont été obtenue. Le rendement massique de l'huile obtenue est 33.3%. le test de tache montre qu'il s'agit d'huile. Ces taches persistent même après séchage..

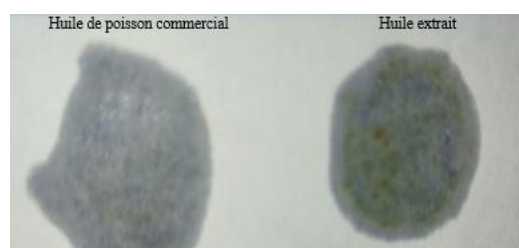


Figure III.44 : Résultats de tests de tache

III.5.2 Screening des huiles de poisson par CCM.

L'huile des têtes d'espadon extraite par voies thermique est analysée par CCM (**figures III.45**).

L'analyse qualitative de cette huile est comparée à une huile commerciale riche en AGPI de la série (n-3) (Essentiellement les EPA et les DHA).



Figure III.45 : Chromatographie sur couche mince de l'huile des têtes d'espadon
De gauche à droite : AGPI de la série ω 3 commercial, huile de tête d'espadon.

Plusieurs composés polaires sont présents dans huile, avec des Rf similaires avec ceux obtenus pour le standard (Oméga-3 (n-3) commercial riche en DHA (22: 6n-3) et en EPA (20: 5n-3) libres ou sous forme de triglycérides) (**tableau III.11**).

Tableau III.11 : Les rapports frontaux (Rf) obtenus pour l'huile étudiée et l'oméga-3 commercial.

Huile	Tâche	Rf	Huile	Tâche	Rf
-------	-------	----	-------	-------	----

Oméga-3 (n-3) commercial	1	0,312	Huile d'espardon	1	0,086
	2	0,354		2	0,388
	3	0,402		3	0,402
	4	0,46		4	0,575
	5	0,75		5	0,625
	6	0,812		6	0,719
	7	0,902		7	0,902
	8	0,920		/	/

Selon les travaux de FROISSARD & BOULARD (2012), Ritter & *al.*, 2013 & INNES & CALDER (2020), il est bien établi que les acides gras polyinsaturés, en particulier l'EPA (acide eicosapentaénoïque) et le DHA (acide docosahexaénoïque), sont présents en abondance dans les fruits de mer et les poissons marins dits "gras". En fait, ces deux acides gras sont souvent désignés sous le nom d'acides gras marins de type n-3 en raison de leur forte association avec les produits de la mer. Actuellement, leur rôle dans la prévention des maladies cardiovasculaires est solidement établi.

III.5.3 Détermination de la composition chimique globale de l'huile de tête d'espardon par CGSM

L'analyse spectrale de l'huile réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) a permis d'identifier 31 constituants représentants comme composés majoritaires l'acide oléique (28,13 %), l'acide palmitique (20 %), l'acide eicosapentaénoïque EPA (18 %), acide docosahexaénoïque DHA (14 %) et le Tableau III.12.

Tableau III.12 : Composition chimique de l'huile.

Pics	Constituant	(%)	TR (min)
1	Acide tétradécanoïque ou acide myristique	5,14%	27.368
2	Acide palmitoléique, ou acide cis-9-hexadécénoïque	5,07%	33.279
3	acide oléique L'acide 9-octadécénoïque	28,13 %	24.641
4	palmitic acid Hexadecanoic acid	20 %	19.393

5	Acide pentadécanoïque	3,7 %	34.112
6	Acide stéarique	5 %	40.199
7	eicosapentaénoïque (EPA), qui est un acide gras oméga-3	18 %	39.274
8	Acide docosahexaénoïque méthyl ester DHA	14 %	49.990
Autres			

Au regard des résultats obtenus, on constate que l'huile de tête d'espadon est très riche en acide gras mono-insaturés et en polyinsaturés qui ont un rôle prépondérant dans la prévention des maladies chroniques telles que le diabète et les maladies cardiovasculaires.

III.6 Caractérisation du squalène

III.6.1 Rendement d'extraction du squalène

L'extraction de squalène à partir de foie de requina été réalisée en utilisant deux méthodes (l'extraction thermique et au solvant (Soxhlet)). Les rendements moyens obtenus, sont représentés dans le tableau III.13.

Tableau III.13 : Rendement d'extraction du squalène par deux méthodes.

	L'extraction thermique	L'extraction au solvant
Rendement d'extraction	56 % A partir de 500g de foie, 280g de squalène ont été obtenus.	90% A partir de 100 g de foie lyophilisé, 90 g de squalène ont été obtenus.

Les rendements d'extraction obtenus sont différents selon le procédé d'extraction. Pour la méthode de Soxhlet, Il est 90% pour celle extraite au soxhlet et de de 56% pour celle issue du traitement thermique. Ces résultats corroborent avec ceux de BOULEMZAOUUD & ZAIDI (2020), NDE & FONCHA (2020) qui ont rapporté que l'extraction des huiles au solvant était plus efficace et reproductible que le traitement thermique.

III.7 Propriétés pharmacologiques des molécules extrait

Les échantillons tels que le chitosane, l'huile d'espadon avec de l'astaxanthine, les squalènes et le mélange de poudres d'os de seiche et d'huîtres ont fait l'objet d'une évaluation des propriétés pharmacologique.

III.7.1 Activités anti inflammatoires

Les résultats des tests d'activité anti-inflammatoire du collagène marin extrait des peaux de sole et de raie ainsi que celle du squalène extrait des foies de requin sont comparés au collagène C et au chondroïtine du commerce. (Tableau III.14). Les propriétés anti-inflammatoires des échantillons, exprimées en pourcentage

Tableau III.14 : Résultats des tests anti inflammatoires des échantillons.

Échantillons (mg/ml)	DO à 560 nm	Activité anti-inflammatoire
Collagène extrait (5mg/ml)	0,228	45%
Collagène commercial + vitamine C (5mg/ml)	0,32	64%
Condroïtine commercial (5mg/ml)	0,37	74%
Squalène extrait (1mg/ml)	0,30	60%

Au regard du tableau III.14, on constate que le collagène se démarque avec une activité anti-inflammatoire notable de 45 %, se rapprochant de l'activité du collagène commercial à 64 %, ainsi que de la chondroïtine commerciale à 74 %. Il est à noter que le collagène commercial est additionné de vitamine C qui possède aussi une activité anti-oxydante. En revanche, le squalène présente une activité anti-inflammatoire de 60 %.

III.7.2 Activités anti-oxydantes

III.7.2.1 Activité anti radicalaire au DPPH

L'activité anti radicalaire des extraits vis-à-vis du radical DPPH•+ a été évaluée par sp

ectrophotométrie à 517 nm, en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune. Les résultats sont présentés dans l'histogramme illustré dans la **figure III.46**

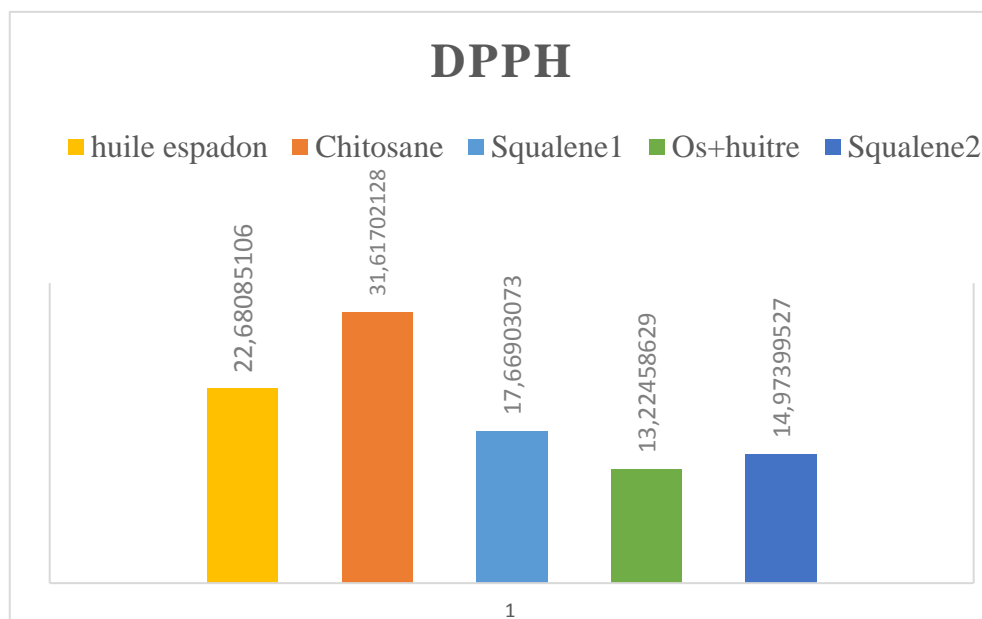


Figure III.46: Pouvoir d'inhibition du radical DPPH• des échantillons (exprimé en %).

Les résultats du test DPPH indiquent des niveaux d'activité antioxydante variés parmi les échantillons testés. Le chitosane affiche la plus forte activité antioxydante avec un pourcentage d'inhibition de 31,61%, ce qui suggère une capacité significative à neutraliser les radicaux libres. L'huile d'espadon en combinaison avec l'astaxanthine montre également une activité antioxydante notable, atteignant un pourcentage d'inhibition de 22,69%. Cependant, une différence notable est observée entre les deux extraits de squalène. L'extrait de squalène 1, obtenu par extraction à chaud, présente une activité antioxydante modérée avec 17,66% d'inhibition, tandis que l'extrait de squalène 2, extrait par solvant, montre une activité légèrement plus faible avec 14,97% d'inhibition. Cette variation peut être attribuée aux différences dans la composition et la structure des squalènes dues aux méthodes d'extraction distinctes. Enfin, le mélange d'os et d'huître présente une activité antioxydante plus faible, évaluée à 13,22%. Ces résultats mettent en lumière l'importance des méthodes d'extraction dans la détermination de l'activité antioxydante des composés, en particulier dans le cas des squalènes.

III.7.2.2 Activité du piégeage du cation radical ABTS

Le piégeage du cation radical $ABTS^{\bullet+}$ en $ABTSH^{\bullet+}$ est induit par l'antioxydant, cette réaction a été surveillée en mesurant l'absorbance à 734 nm tout en déterminant la concentration inhibitrice des divers échantillons. Les résultats sont présentés dans l'histogramme illustré dans la **figure III.47**

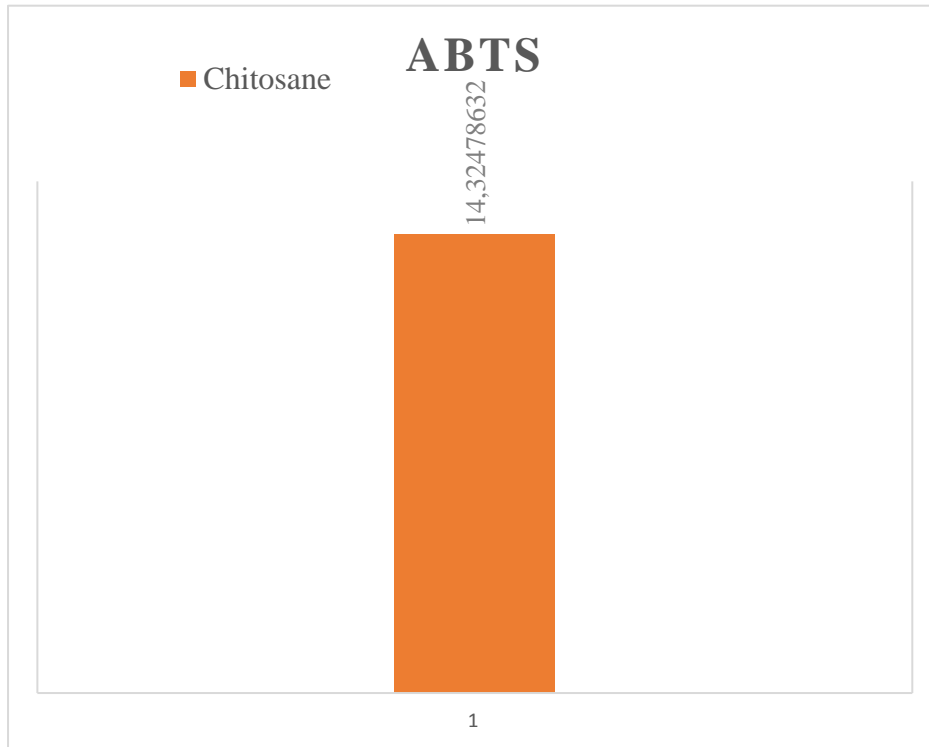


Figure III.47 : Pourcentage d'inhibition du radical du test ABTS des échantillons.

Le chitosane présente une activité antioxydant mesurée à 14,32% dans le test ABTS, indiquant une capacité modérée à neutraliser les radicaux libres.

III.8.2.3 Activité du pouvoir réducteur (FRAP)

Ce test est basé sur la réduction du ferricyanide de potassium ($K_3Fe(CN)_6$) en fer ferreux par un antioxydant. La couleur bleu-vert issue de cette réduction est mesurée par spectrophotométrie à 700 nm. Les résultats sont présentés dans l'histogramme illustré dans la figure suivante :

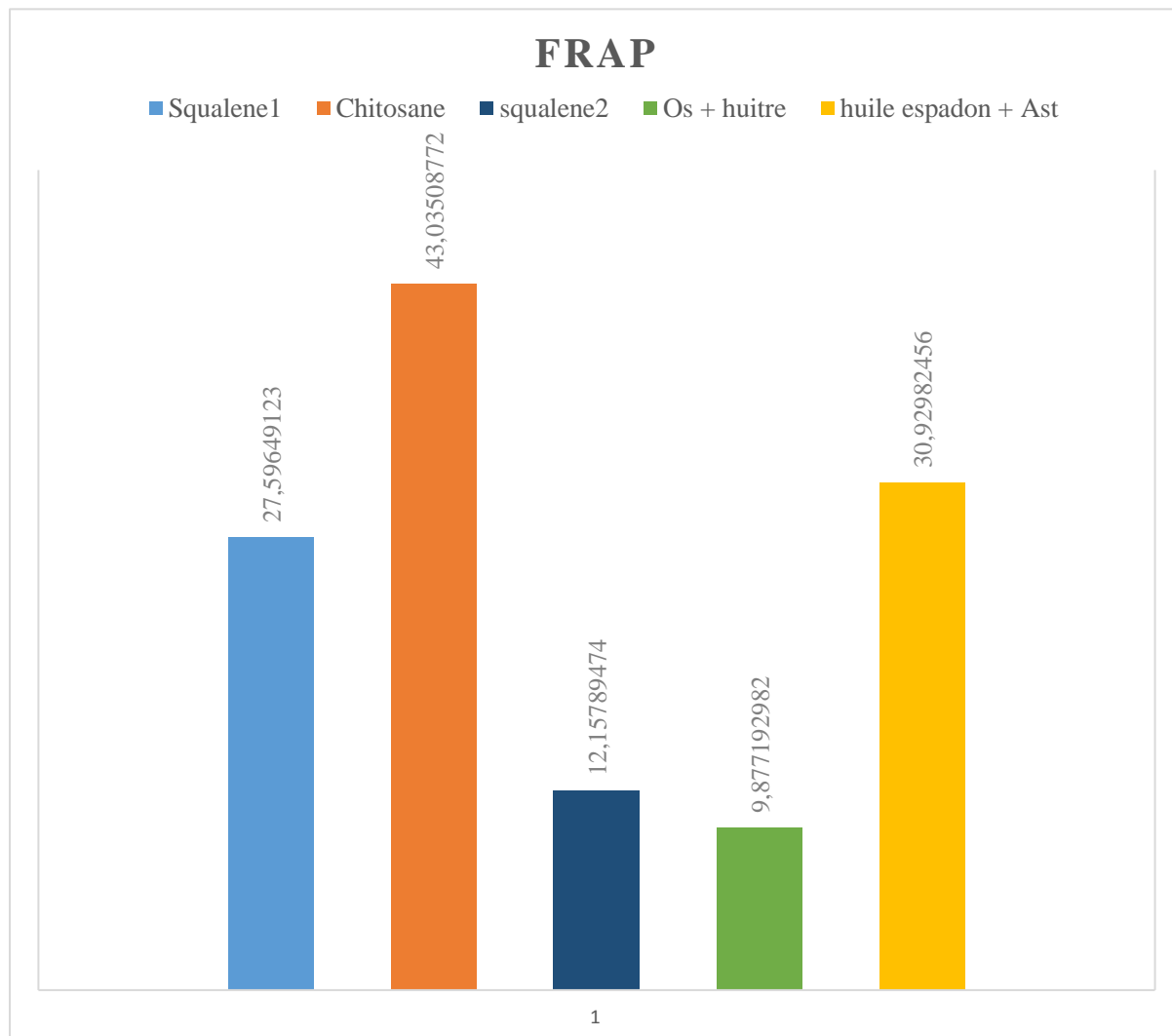


Figure III.48 : Valeurs des pourcentages d'inhibition du radical du test FRAP.

Les résultats du test FRAP révèlent les capacités antioxydantes des échantillons, exprimées en pourcentage d'activité antioxydante. Le chitosane se distingue avec une activité antioxydante notable de 43.03%, démontrant sa forte capacité à réduire les ions ferriques en ferreux. Il est suivi de près par le mélange d'huile d'espadon et d'astaxanthine, qui affiche une activité antioxydante significative de 30.92%. En ce qui concerne les extraits de squalène, une différence significative est observée : l'extrait de squalène 1, obtenu par extraction à chaud, présente une activité antioxydante modérée de 27.59%, tandis que l'extrait de squalène

2, extrait par solvant, affiche une activité antioxydante plus faible, mesurée à 12.15%. Ces différences peuvent être attribuées aux méthodes d'extraction, qui ont un impact sur la composition et la structure des squalènes extraits. Finalement, le mélange de la poudre d'os de seiche et la poudre d'huître présente la plus faible activité antioxydante, enregistrant un pourcentage de 9.87%. Ces résultats du test FRAP confirment les variations dans les propriétés antioxydantes des échantillons et peuvent être utiles pour évaluer leur utilité potentielle dans diverses applications.

III.7.2.3 Activité de réduction par la formation du complexe Fe^{2+} phénanthroline

L'antioxydant provoque la conversion du fer ferrique (Fe^{III}) en fer ferreux (Fe^{II}), lequel interagit ensuite avec la phénanthroline pour engendrer la formation d'un complexe stable de couleur rouge-orange, qui présente une absorption à une longueur d'onde de 510 nm.

Les résultats sont présentés dans l'histogramme illustré dans la figure III.49

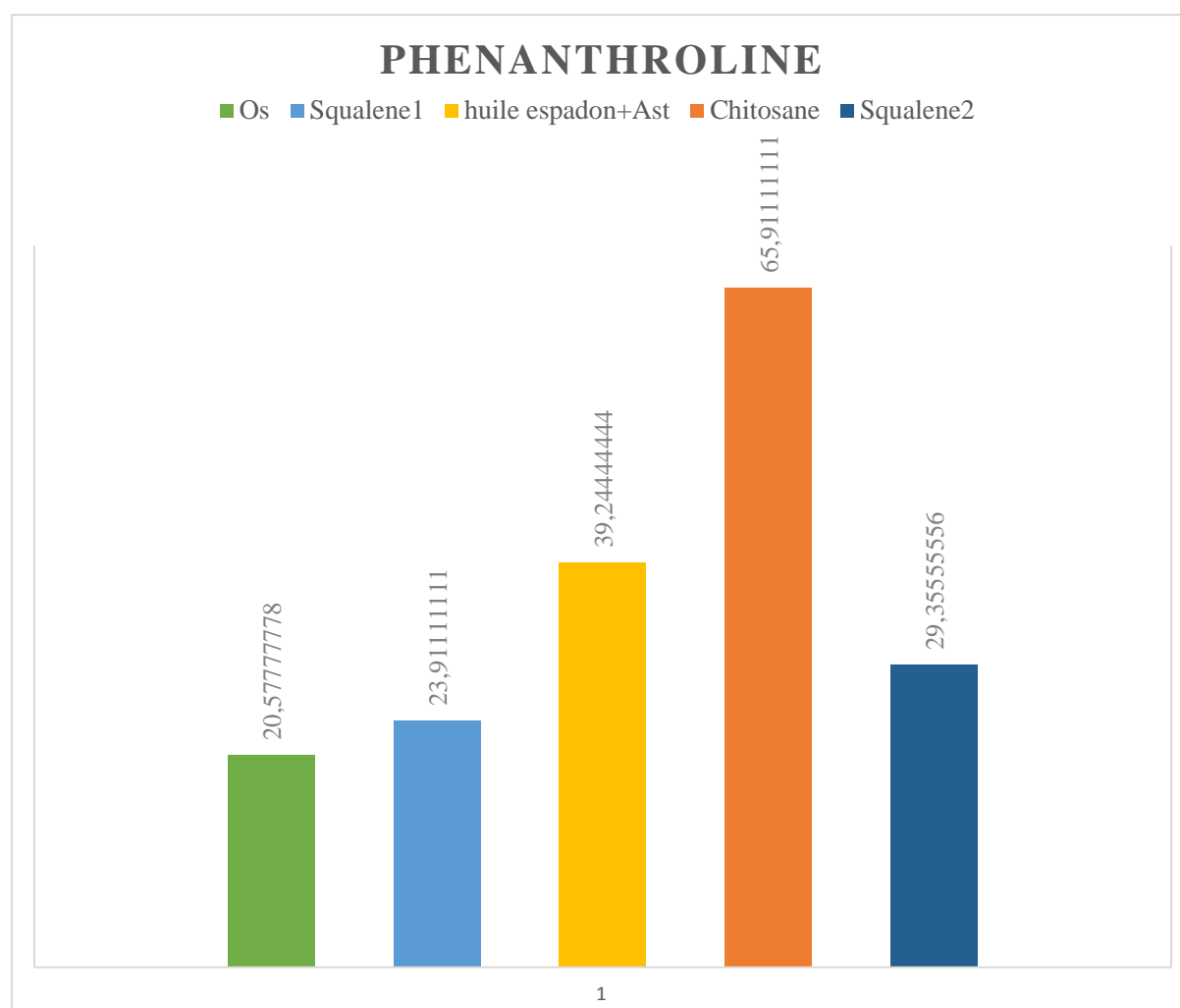


Figure III.49 : Valeurs des pourcentages d'inhibition du fer ferrique au test Phénanthroline.

Le chitosane se distingue avec la plus forte activité antioxydante, affichant un pourcentage impressionnant de 65.91%. Ce résultat souligne la puissance antioxydante du chitosane. Le mélange d'huile d'espadon et d'astaxanthine montre également une activité antioxydante significative, atteignant 39.24%. En ce qui concerne les extraits de squalène, une différence notable est observée : l'extrait de squalène 1, obtenu par extraction à chaud, présente une activité antioxydante modérée de 23.91%, tandis que l'extrait de squalène 2, extrait par solvant, montre une activité légèrement supérieure, atteignant 29.35%. Cette variation peut être attribuée aux méthodes d'extraction, qui ont une incidence sur la composition et la structure des extraits. Enfin, le mélange d'os de seiche et d'huître présente une activité antioxydante modérée, enregistrant un pourcentage de 20.57%.

III.8.3 Activités enzymatiques

III.8.3.1 Activité anti diabétique

Les échantillons tels que le chitosane, l'huile d'espadon avec de l'astaxanthine, les squalènes et le mélange d'os de seiche et d'huîtres présentent un potentiel antidiabétique prometteur en raison de leur capacité à réguler la glycémie. Cependant, il est essentiel de noter que ces échantillons contiennent également des minéraux et du fer, ce qui peut influencer leur effet sur le diabète. Le chitosane, issu de la chitine, peut réduire l'absorption des graisses et des glucides, mais sa teneur en minéraux et en fer nécessite une surveillance.

L'huile d'espadon et l'astaxanthine, riches en antioxydants, peuvent atténuer le stress oxydatif lié au diabète, mais il est crucial de gérer la quantité de fer consommée. Les squalènes, en cours d'étude pour leur potentiel antidiabétique, peuvent également interagir avec les minéraux et le fer. Le mélange d'os de seiche et d'huîtres présente des caractéristiques similaires avec une teneur en minéraux et en fer à prendre en compte. En résumé, ces échantillons offrent des opportunités, mais leur teneur en minéraux et en fer demande une évaluation minutieuse, avec l'avis d'un professionnel de la santé pour les personnes atteintes de diabète.

III.8 Résultats des tests pharmaco-techniques des comprimés élaborés

Les différents essais de pharmacotechnie ont été réalisés dans le but de contrôler et de corriger/optimiser les paramètres de fabrication des formes pharmaceutiques. Les

caractéristiques pharmotechniques des comprimés de Reflux Calm à base de carbonates de calcium issus des os de seiche et des coquilles d’huitres sont consignés dans les tableaux

III.15et III.16

pH de solution	Reflux calme	Référence
2,5	4,1	4, 33
3	4,5	4,5
4	5,5	5,5
5	6	6,2
6	6,1	6
7	7	7

Tableau III.15 : Résultats des tests pharmaco techniques.

Teste	Résultats	Norme	Référence
Humidité résiduelle	1,7%	$1 \leq H \leq 3$	Dossier Pharmaceutique
Ecoulement	5S	100g / 10 S	Phr Eur
Poids moyen	802.4	$800\text{mg} \pm 2,5\%$	Dossier Pharmaceutique
Délitement	5 MIN	$\leq 15 \text{ min}$	Phr Eur
Dureté	4	3-7 kp	Dossier Pharmaceutique
Friabilité	0,03	$\leq 1 \text{ min}$	Phr Eur

Tableau III.16 : Résultats de test d’acidité

Au regard du tableau on constate que les comprimés Reflux Calm d’anti-reflux gastrique élaborés sont comparables à la référence, et répondent aux dispositions de l’arrêté interministériel du 4 octobre 2016 paru dans le journal officiel N°39 du 02 juillet 2017.

III.9 Caractéristiques physico-chimiques de la crème

Les caractéristiques physico-chimiques du crème anti-psoriasis à base de squalène sont consignées dans le tableau III.17.

Tableau III.17 : Caractéristiques physico-chimiques du crème anti-psoriasis

<p>Aspect macroscopique : La crème présente une couleur uniforme et une texture lisse, sans signes apparents de séparation, de granularité ou de bulles d'air. Son aspect macroscopique indique une homogénéité et une qualité visuelle satisfaisantes. J1 : stable J15 : stable 3 mois : stable</p>	
<p>Aspect microscopique : L'observation microscopique de la crème montre une distribution uniforme et fine des gouttelettes d'huile, indiquant une bonne dispersion des ingrédients dans le produit. Cela confirmerait la qualité et l'homogénéité de la crème à une échelle microscopique, ce qui est essentiel pour assurer son efficacité lors de son application sur la peau.</p>	 G x40
<p>Stabilité à la centrifugation Après une centrifugation, aucune séparation de phases n'a été observée, la crème est donc stable et homogène.</p>	
<p>Homogénéité et distribution La crème affiche une homogénéité remarquable, avec une répartition uniforme de ses composants à l'échelle macroscopique. Les gouttelettes d'huile sont finement dispersées, ce qui témoigne d'une distribution équilibrée des ingrédients dans le produit.</p>	
<p>Détermination du pH pH=7</p>	

Le produit élaboré (la crème) est parfaitement stable et homogène, de pH neutre. Sa texture est lisse et légère, pénètre bien dans la peau, elle est comparable à celle qui existe dans le commerce.

III.10 Résultats du test de la tolérance cutanée de crème fabriqué



III.10.1 Résultat du test de tolérance cutanée de la crème

Toutes les autorités réglementaires internationales exigent que les produits destinés aux soins de la peau, qu'il s'agisse de médicaments topiques, de produits cosmétiques, de soins personnels ou de nutraceutiques, ne présentent aucun risque pour la santé humaine lorsqu'ils sont utilisés conformément aux conditions d'utilisation normales et raisonnablement prévisibles sur le marché.

Il est donc essentiel de fournir les informations appropriées permettant d'effectuer une évaluation de la sécurité du produit, et ces informations doivent être documentées dans le dossier du produit, accompagnées de preuves des allégations avancées. En règle générale, cette évaluation peut reposer sur la connaissance de la toxicité des ingrédients.

Les résultats des tests de tolérance cutanée réalisés sur les lapins en ce qui concerne la crème anti-psoriasis sont enregistrés dans le **tableau III.18** :

Tableau III.18 : Résultat du test de tolérance cutanée de la crème.

L'essai	Observation après 24h	Observation après 72j=h
La crème	 <p>E=1 Oe = 0</p>	 <p>E = 0 Oe = 0</p>

Au regard des deux tableaux III.18, aucun œdème n'a été observé vis-à-vis de la crème. Un petit érythème de score 1 a été observé au bout de 24H mais il a complètement disparu au bout de 72 H d'application.

III.10.2 Détermination de l'indice d'irritation primaire cutanée

La commercialisation d'une crème pharmaceutique est également soumise à une évaluation scientifique de sécurité préalable. Les méthodes utilisées et les résultats de ces évaluations doivent être inclus dans le Dossier d'Information Produit (DIP) ou le Dossier d'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM), selon la réglementation en vigueur dans le pays concerné.

- L'indice d'irritation primaire cutanée pour la crème :

$$IP = \frac{1 + 0}{24} = 0.041$$

IP < 0.5 l'indice d'irritation primaire cutanée indique que la crème est non irritante.

L'indice d'irritation primaire cutanée du produit est de 0.04 nettement inférieur à 0.5, ce qui permet de conclure que la crème anti-psoriasis à base de squalène est "non irritante". Ce produit répond aux normes de la pharmacopée européenne.

III.11 Résultats du DL50 des compléments alimentaires

Les résultats des tests de toxicité des 04 compléments alimentaires élaborés sont reportés dans le tableau III.17

Tableau III.17 : Résultats de test de la DL50 des quatre produits élaborés (Fish OIL à base d'oméga 3 et d'astaxanthine, gélules Minceur à base de chitosane, gélules à base de collagène marin et comprimés Reflux Calme

Produits	Taux de mortalité					
	Le groupe de contrôle	G1 50mg/kg	G2 500mg/kg	G3 1000mg/kg	G4 5000mg/kg,	G5 15000mg/kg
Fish oil	un décès, ce qui confirme que les décès dans les groupes exposés étaient liés à la substance testée.	taux de mortalité de 0 % (0 sur 4 souris)	taux de mortalité de 0 % (0 sur 4 souris)	taux de mortalité de 0 % (0 sur 4 souris)	taux de mortalité de 0 % (0 sur 4 souris)	taux de mortalité de 0 % (0 sur 4 souris)
Minceur		taux de mortalité de 0 % (0 sur 4 souris)	taux de mortalité de 0 % (0 sur 4 souris)	taux de mortalité de 0 % (0 sur 4 souris)	taux de mortalité de 0 % (0 sur 4 souris)	taux de mortalité de 0 % (0 sur 4 souris)
Collagène marin		taux de mortalité de 0 % (0 sur 4 souris)	taux de mortalité de 0 % (0 sur 4 souris)	taux de mortalité de 0 % (0 sur 4 souris)	taux de mortalité de 0 % (0 sur 4 souris)	taux de mortalité de 0 % (0 sur 4 souris)

Reflux calme		taux de mortalité de 0 % (0 sur 4 souris)	taux de mortalité de 0 % (0 sur 4 souris)	taux de mortalité de 0 % (0 sur 4 souris)	taux de mortalité de 0 % (0 sur 4 souris)	taux de mortalité de 0 % (0 sur 4 souris)
-----------------	--	---	---	---	---	---

Classes de toxicité : Échelle de Hodge et Sterner, DL50 orale pour le rat Indice de toxicité.


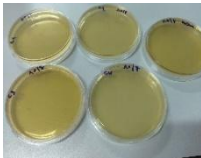
- Jusqu'à 1 mg/kg = extrêmement toxique
- De 1 à 50 mg/kg = hautement toxique
- De 50 à 500 mg/kg = modérément toxique
- De 500 à 5 000 mg/kg = légèrement toxique
- De 5 000 à 15 000 mg/kg = presque pas toxique
- Plus de 15 000 mg/kg = relativement inoffensif

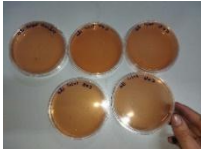
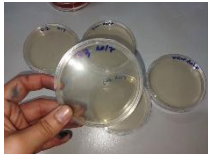
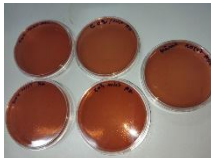
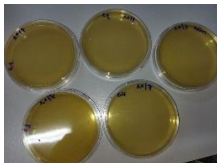
Du tableau III. 17, il en ressort que les quatre compléments élaborés à partir des coproduits marins ne sont pas toxiques

III.12 Qualité microbiologique des produits fabriqués

Les résultats de la qualité microbiologique des compléments alimentaires ainsi que ceux de la crème anti-psoriasis sont consignés dans le tableau III.18

Tableau III.18 : Résultats de contrôle microbiologique des produits fabriqués.

Milieux	Résultats de la qualité microbiologique	Normes
PCA (DGAT)	 00 UFC/g	$\leq 10^2$
Cétrimide (P.a)	 00 UFC/g	Absence

Chapman (S.a)	 00 UFC/g	Absence
Sabouraud (DLMT)	 00 UFC/g	$\leq 10^2$
MacConKey (MCA)	 00 UFC/g	Absence
gélose SS	 00 UFC/g	Absence dans 25 g

DGAT : le nombre de germes aérobies totaux, DLMT : le nombre total des levures et Moisissures, Pa : *Pseudomonas aeruginosa*, MCA *Mycobacterium avium*, Sa : *Staphylococcus aureus*

Les produits élaborés sont de qualité microbiologique très satisfaisante, vu qu'il y a absence totale de germes aérobies totaux, des levures et moisissures, ainsi que des germes spécifiques : *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Le but de ce travail est l'exploitation biotechnologique des coproduits marins afin d'extraire une variété de biomolécules marines aux propriétés pharmacologiques. Ces biomolécules bioactives une fois caractérisées ont fait l'objet d'une formulation pour proposer un panel de compléments alimentaires (minceur, Fish oil, reflux calme et collagène marin) et une crème destinée à soulager les symptômes du psoriasis.

Effectivement, un éventail de ressources marines a été exploité pour la formulation de divers produits entièrement naturels. Les coquilles d'huîtres et de seiche ont été utilisées pour obtenir de la poudre de carbonate de calcium (CaCO_3). Un mélange de carapaces de crevettes (*Aristeus antennatus* et *Parapenaeus longirostris*) a été employé pour la production de chitosane et d'astaxanthine. Le collagène a été extrait de trois types de peaux de poissons (sole, seiche et raie). De plus, la tête d'espadon a été utilisée pour l'extraction des huiles et en fin le squalène a été extrait à partir de foies de requins.

De l'ensemble des résultats obtenus, il en ressort :

La détermination de la composition biochimique des carapaces de crevettes a montré que les cendres et les protéines sont majoritaires.

L'analyse de la composition biochimique des coquilles d'huîtres, des os de seiche et d'*Anomia* a révélé que leur teneur en cendres s'élève respectivement à 88 %, 90 % et 79 % de la composition totale.

L'analyse de la composition minérale effectuée à l'aide de la spectroscopie de fluorescence des rayons X (XRF) et de la calcimétrie a révélé que le carbonate de calcium (CaCO_3) prédomine dans les coquilles d'huîtres (95%), l'os de seiche (98 %) et d'*Anomia* (95%), tandis qu'il représente 45 % de la composition des carapaces de crevettes.

Le chitosane obtenu par extraction chimique est de bonne qualité, avec un grand degré de désacétylation (98%) avec une solubilité excellente dans l'acide acétique 1%. Les rendements de l'extraction du chitosane et du collagène sont très satisfaisants.

Le rendement d'extraction d'huile de tête d'espadon par méthode thermique est satisfaisant.

La caractérisation qualitative par CCM des huiles extraites, a révélé la présence des acides gras polyinsaturés de la famille des omégas 3 (tels que le DHA et l'EPA).

De même, la caractérisation quantitative par CPG/SM des huiles extraites a permis d'identifier 31 constituants avec quatre constituants majoritaires : l'acide oléique (28,13 %), l'acide palmitique (20 %), l'acide eicosapentaénoïque EPA (18 %), acide docosahexaénoïque DHA (14 %).

Le rendement d'extraction du squalène est très satisfaisant. Il est de 90% par la méthode au Soxhlet et de 56% après extraction thermique. Pour la méthode de et la méthode dans l'ordre. Les résultats des activités anti inflammatoire montre que c'est le collagène et le squalene qui possèdent les activités anti-inflammatoires les importantes.

Le chitosane extrait des carapaces de crevettes possède une activité anti oxydante avérée ainsi qu'une activité anti diabétique (inhibition de l'alpha amylase).

Les résultats des tests pharmaco-techniques des comprimés sont conformes aux normes en vigueur. Les résultats des analyses des compléments alimentaires sont satisfaisants et répondent aux dispositions de l'arrêté interministériel du 4 octobre 2016 paru dans le journal officiel N°39 du 02 juillet 2017. Les résultats du DL50 des compléments alimentaires montrent l'absence de toxicité

La crème a été satisfaisante tant sur le plan physico-chimique (pH, stabilité, aspect macroscopique et microscopique) que sur le plan microbiologique. L'évaluation du test de la tolérance cutanée en appliquant la crème anti-psoriasis sur lapins a montré que ce produit est non toxique, de même, la valeur de l'indice d'irritation primaire cutanée est inférieure à 0,5, ce qui indique que le produit est non irritant.

À l'avenir, il serait intéressant de :

- Prospector d'autres biomolécules marines à partir des coproduits marins telles que les glyco-aminoglycanes, chondroïtine sulfate et les peptides actifs
- Tester le collagène et le chitosane produits pour leur activité anticoagulante, hémostatique.
- Elaborer des hydrolysats de collagène pour produire la gélatine qui est largement utilisée dans l'industrie agroalimentaire mais également en pharmacie, en nutraceutique pour la micro-encapsulation
- Elaborer des concentrés aromatiques à partir des têtes et arêtes de poisson et des têtes de crustacés
- Proposer de nouvelles formulations des compléments alimentaires immunostimulant à base de minéraux marins comme le zinc et le sélénium.

Références:

- AOAC. (1980).** *Official Methods of Analysis, 1980: AOAC International: Free Download, Borrow, and Streaming.* [consulté le 5.10.23]. [En ligne]. <https://archive.org/details/gov.law.aoac.methods.1980>.
- AOAC. (1999).** *Official Method of Analysis of AOAC International. The Association of The Official Analytical Chemists 11 th Edition.*, [consulté le 5.10.23]. [En ligne] <https://www.semanticscholar.org/paper/AOAC%2C-1999.-OfficialMethod-of-Analysis-of-AOAC-ThePustaka/29e0748af86008ae40f24d67d110e476e14326ce>
- Arvanitoyannis, L., & Aikaterini, K. (2008).** *Fish industry waste: Treatments, environmental impacts, current and potential uses | Request PDF.* <https://doi.org/10.1111/J.1365-2621.2006.01513.X>
- Bako, T. (2017).** *Criteria for the Extraction of Fish Oil. Agricultural Engineering International: CIGR Journal, 19(3).* P.P.120-132.
- Ben Dhieb. (2014).** *Développement et caractérisation de films biodégradables à base d'acide poly lactique et de chitosane .Mémoire .Canada. Université de Laval.* (PDF) Développement et caractérisation de films biodégradables à ...€
 • Figure 3.2 Spectres IR-TF du film avec 63% de CS, 18% PLA, 9% PCL et 9% PEG (1) et des polymères purs le - DOKUMEN.TIPS
- Benbouabdellah, S., Benabdelouahed, C., & Ben Mehri, A. (2023).** Consommation des compléments alimentaires et COVID-19: « Étude observationnelle chez la population Algérienne. *Algerian Journal of Health Sciences*, 5(1), P.P 22-34.

- Bennacer, A., & Bouguenna, S. (2022).** *Compléments Alimentaires Etude sur ces composés, leurs effets bénéfiques et les risques liés à leur utilisation.pdf.*
<https://fac.umc.edu.dz/snv/bibliotheque/biblio/mmf/2022/Comp%C3%A9ments%20Alimentaires%20Etude%20sur%20ces%20compos%C3%A9s,%20leurs%20effets%20b%C3%A9n%C3%A9fiques%20et%20les%20risques%20li%C3%A9s%20%C3%A0%20leur%20utilisation.pdf>
- BRADFORD. (1976).** *La méthode de Bradford pour le dosage de la teneur totale en protéines.*[consulté le 5.10.22].[En ligne].
[https://cellculture.altvista.org/the-bradford-method-to-quantify-cell-protein/?lang=fr&doing_wp_cron=1655325055.5128540992736816406250.](https://cellculture.altvista.org/the-bradford-method-to-quantify-cell-protein/?lang=fr&doing_wp_cron=1655325055.5128540992736816406250)
- CAULLET, L., DOS SANTOS, A., KNIPPER, G., RUSALEN, M., & SEIGNEUR, M. (2018).** *Les émulsions cosmétiques et alimentaires.*
<https://ensaia.univ-lorraine.fr/telechargements/rapport-final-emulsions-2018.pdf>
- Chabrol R. (2012).** « *Le prix hideux de la beauté* ». Bloomassociation.
- Cnokaert, J, & Guillet, F. (2022). IGEN Biotechnologies et secteur médico-social. In *Emulsions*.
- CONG, X.-Y, & ZHANG, H.-Z. (2019).** *Recent Progress in Sources, Biological Activity and Application of Astaxanthin.*International Journal of Sciences, 8(03),.
- CX FO. (2013).** *CODEX COMMITTEE ON FATS AND OILS 23rd Session Langkawi, Malaysia—25-2 to 1 Mars 2013. European Union comment :P.P9*

- Danielsson, & Lindman. (1981).** *The definition of micro-emulsion, Colloids and Surfaces* (p. 1981).
https://www.chm.bris.ac.uk/eastoe/Surf_Chem/3%20Microemulsions.pdf
- David, L., Montembault, A., Vizio, N., & Crépet, A. (2004).** *Ordering in hydrophobic biopolyelectrolyte chitosan solutions. 5th International Conference on Polymer-Solvent Complexes & Intercalates. 11-13 Juin. Lorient, France.* Ordering in Bio-Polyelectrolyte Chitosan Solutions - David - 2005 - Macromolecular Symposia - Wiley Online Library
- Delannoy, C., & Coquelle, M. (2017).** *Valorisation des coproduits marins.*
<https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/procedes-chimie-bio-agro-th2/filiere-de-production-produits-d-origine-animale-42432210/valorisation-des-coproduits-marins-bio9150/>
- Deloy, L. (2017).** *Compléments et produits alimentaires chez le sportif: consommation, risques et importance du conseil officinal.*
<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01931819/document>.
- Djelad, L. (2011).** *Préparation des matériaux composites chitosane –zéolithes. Application dans l'adsorption du cuivre. Thèse de doctorat. Préparation Des Matériaux Composites Chitosane-zéolithes. Application Dans L'adsorption Du Cuivre (theses-algerie.com)*
- Doctonat. (2019, décembre 3).** Chitosan—Dossier complet—Bienfaits et danger.
 Doctonat. <https://doctonat.com/chitosan-bienfaits-danger/>
- Doumeix, O. (2011).** *Opérations unitaires en génie biologique tome 1 les émulsions (SCÉRÉN-CNDP-CRDP [Aquitaine]).*

- Du, Y. J., Zhao, Y. Q., Dai, S., C., & Yang B, B. (2009).** *Preparation of water-soluble chitosan from shrimp shell and its antibacterial activity. Innov. Food Sci. Emerg. Technol., 10(1) : P.P.103- 107.*
- DURMUŞ MUSTAFA, & DURMUŞ MUSTAFA. (2019).** *Fish oil for human health : Omega-3 fatty acid profiles of marine seafood species. Food Science and Technology.*
- El Houda, H., N. (2017).** *Evaluation de la qualité organoleptique, hygiénique et nutritionnelle du tilapia du Nil Oreochromis niloticus (L., 1758).Mémoire*
- Encinas, M. (2020).** *La supplémentation en acides gras oméga-3 à l'officine a-t-elle un intérêt dans la prévention du risque cardiovasculaire?*
- Évrard, B. (2016).** *Le psoriasis : Physiopathologie, traitements et conseils à l'officine en 2016.*
- FAO. (2022).** *FAO publications catalogue 2022. FAO.*
<https://doi.org/10.4060/cc2323en>
- Felt, O. (1999).** *Evaluation d'un polysaccharide cationique comme véhicule pour la voie ophtalmique. Thèse de Doctorat, Université de Genève. Evaluation de l'activité laxative des polysaccharides.pdf (umc.edu.dz)*
- Fernandez-Kim, S., O. (2004).** *Physicochemical and Functional Properties of Crawfish Chitosan as Affected by Different Processing Protocols.*
- Fischer, W., & al. (1987).** *FICHES FAO D'IDENTIFICATION DES ESPECES POUR LES BESOINS DE LA PECHE.*
- Gandhidasan, R., Thamarachelvan, A., & Babura, S. (1991).** *Action anti-inflammatoire de Lannea coromandelica par stabilisation de la membrane HRBC* – *ScienceOpen.*

<https://www.scienceopen.com/document?vid=5a94a6a2-16fd-42e0-80dd-66d2aeb891d1>

Gašperlin, M., & Gosenca, M. (2011). Main approaches for delivering antioxidant vitamins through the skin to prevent skin ageing. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 8(7), P.P 905-919. <https://doi.org/10.1517/17425247.2011.581657>

Gohlke, R. S. (1959). Time-of-Flight Mass Spectrometry and Gas-Liquid Partition Chromatography. *Analytical Chemistry*, 31(4), .P.P.535-541. <https://doi.org/10.1021/ac50164a024>

Guillot, J. P., Giauffret, J. Y., Martini, M. C., Gonnet, J. F., & Soulé, G. (1979). Etudes de tolérances oculaire et cutanée chez le lapin de differents echantillons d'esters d'acides gras. *International Journal of Cosmetic Science*, 1(5), P.P.265-290. <https://doi.org/10.1111/j.1467-2494.1979.tb00222.x>

GVR. (2021). *Dietary Supplements Market Size & Trends [2023 Report]*. <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/dietary-supplements-market>

Hafsa, J., Smach, M. A., Charfeddine, B., Limem, K., Majdoub, H., & Rouatbi, S. (2016). Antioxidant and antimicrobial proprieties of chitin and chitosan extracted from *Parapenaeus Longirostris* shrimp shell waste. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 74(1), P.P.27-33. <https://doi.org/10.1016/j.pharma.2015.07.005>

Herreros-Chavez, L., Cervera, M. L., & Morales-Rubio, A. (2019). Direct determination by portable ED-XRF of mineral profile in cocoa powder samples. *Food Chemistry*, P.P.278, P.P.373-379. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.065>

- Humbert, L., & Lhermitte, M. (2005).** Molécules indétectables par chromatographie en phase gazeuse. *Annales de Toxicologie Analytique*, 17(1), Article 1. <https://doi.org/10.1051/ata:2005038>
- Insights10. (2022).** *Healthcare Market Research Firm and Syndicated Reports—Insights10*. <https://www.insights10.com/www.insights10.com/>
- JDN. (2021, mars 10).** *Le complément alimentaire, un rebond attendu dès cette année.* <https://www.journaldunet.com/ebusiness/commerce/1498521-le-complement-alimentaire-un-rebond-attendu-des-cette-annee/>
- Jongjareonrak, A., Benjakul, S., Visessanguan, W., & Tanaka, M. (2005).** Isolation and characterization of collagen from bigeye snapper (*Priacanthus macracanthus*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 1203-1210. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2072>
- JORAD. (2012).** *Journal Officiel de la République Algérienne*. <https://www.joradp.dz/FTP/jo-francais/2019/F2019062.pdf>
- Juang, R. S., & Shao, H. J. (2002).** *Effect of pH on Competitive Adsorption of Cu(II), Ni(II), and Zn(II) from Water onto Chitosan Beads | Request PDF.* https://www.researchgate.net/publication/225576363_Effect_of_pH_on_Competitive_Adsorption_of_CuII_NiII_and_ZnII_from_Water_onto_Chitosan_Beads
- Kim S-K, & Fatih Karadeniz. (2012).** « *Biological Importance and Applications of Squalene and Squalane* ». *Advances in Food and Nutrition Research*.
- Kim S.K, Rajapakse N, & Shahidi F. (2008).** *Production of bioactive chitosan oligosaccharides and their potential use as nutraceuticals.* In: C.S. Barrow, F (Ed.) *Marine nutraceuticals and functional foods. Nutraceutical Science and Technology*, New York, pp. 183- 196.

- Kittiphattanabawon, P., Benjakul, S., Visessanguan, W., Nagai, T., & Tanaka, M. (2005).** Characterisation of acid-soluble collagen from skin and bone of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*). *Food Chemistry*, 89(3), P.P.363-372.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.042>
- KURITA K (2006).** Chitin and chitosan: functional biopolymers from marine crustaceans. [en ligne]. *Biotechnol.* 8: 203-226p. [Consulté le: 05/06/2020]. Disponible sur le web:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16532368/>.
- Lablack, M. (2012).** *Extraction et purification du collagène à partir de la peau et des écailles du tilapia du Nil adulte (Oreochromis niloticus) (Linnaeus, 1758).*
- Lassoued, J., Ben Slimane, E., Sadok, S., & Bejaoui, N. (2020).** Extraction du collagène à partir du byssus de la moule *Mytilus gallprovincialis*, Extraction of collagen from byssus of Mussel *Mytilus gallprovincialis*. *Bulletin de l'Institut National des Sciences et Technologies de la Mer de Salammbô*, P.P.46, P.P.89-94.
- Leblack, M. (2012).** *Extraction et purification du collagène à partir de la peau et des écailles du tilapia du Nil adulte (Oreochromis niloticus) (Linnaeus, 1758)*—PDF Free Download. <https://docplayer.fr/33747274-Extraction-et-purification-du-collagene-a-partir-de-la-peau-et-des-ecailles-du-tilapia-du-nil-adulte-oreochromis-niloticus-linnaeus-1758.html>
- Lee S, & Choi H. (1999).** *Oligogalacturonic acid and chitosan reduce stomatal aperture by inducing the evolution of reactive oxygen species from guard cells of tomato and Commelina communis.* *Plant Physiol.*, 121(1): P.p.147-52.
- Liu, Y., Xing, R., Yang, H., Liu, S., Qin, Y., Li, K., Yu, H., & Li, P. (2020).** Chitin extraction from shrimp (*Litopenaeus vannamei*) shells by successive

- two-step fermentation with *Lactobacillus rhamnoides* and *Bacillus amyloliquefaciens*. *International Journal of Biological Macromolecules*, P.P. 148, P.P.424-433. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.01.124>
- LIU, Z, HOU, Y, HE, C, WANG, X, CHEN, S, HUANG, Z, & CHEN, F. (2020).** *Enhancement of linoleic acid content stimulates astaxanthin esterification in *Coelastrum* sp.* *Bioresource Technology*. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852419318784>
- LSCV. (2013).** Tests sur les animaux. *LSCV*. <https://www.lscv.ch/tests-sur-les-animaux/>
- Lucas. (1846).** (PDF) *Etude Préliminaire sur la Biologie et la Dynamique des Populations de la Crevette Profonde *Parapenaeus Longirostris* (LUCAS, 1846) de la Façade Maritime Oranaise.* ResearchGate. https://www.researchgate.net/publication/287352622_Etude_Preliminaire_sur_la_Biologie_et_la_Dynamique_des_Populations_de_la_Crevette_Profonde_Parapenaeus_Longirostris_LUCAS_1846_de_la_Facade_Maritime_Oranais
e
- Nagai, T., & Suzuki, N. (2004).** Isolation of collagen from fish waste material—Skin, bone and fins. *Food Chemistry*, P.P.68(3), P.P.277-281. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00188-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00188-0)
- Ngo D.N, Lee S.H, Kim M.M, & Kim S.K. (2009).** *Production of chitin oligosaccharides with different molecular weights and their antioxidant effect in RAW 264.7 cells.* *Journal of Functional Foods*, 1 : P.P.188-198.
- NO H-K., MEYERS S-P (1995).** Preparation and characterization of chitin and chitosan. [en ligne]. *J.aquatic food prod. tech*: 4, 27-52p. [Consulté le: 03/05/2020]. Disponible sur le web: https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1300/J030v04n02_03.

- Oulhiz, A. (2018).** *Évaluation, valorisation et utilisation des coproduits de la crevette (*Penaeus japonicus*) et du thon rouge (*Thunnus thynnus*) pour l'alimentation du loup de mer d'élevage (*Dicentrarchus labrax*)*. [On ligne]. <https://www.pnst.cerist.dz/detail.php?id=67930>
- Peh, K. S. H., & Sodhi, N. S. (2006).** *Conservation value of degraded habitats for forest birds in southern Peninsular Malaysia., Diversity and Distributions, 12 : P.P. 572-581.*
- Petek, S. (2018a).** *Chapitre 32. Substances naturelles : Des trésors cachés.* IRD Éditions. <https://doi.org/10.4000/books.irdeditions.28193>
- Petek, S. (2018b).** *Chapitre 32. Substances naturelles : Des trésors cachés.* IRD Éditions. <https://doi.org/10.4000/books.irdeditions.28193>
- Pharmacopée Française. (1987).** *Pharmacopée Française-Emulsionspdf.* <https://ansm.sante.fr/uploads/2020/10/22/emulsions.pdf>
- Randriamahatody, Z. (2011).** *Valorisation biotechnologique des co-produits de crevette : Utilisation de la proteolyse enzymatique pour des applications avicoles à Madagascar* [Université d'Antananarivo]. <https://archimer.ifremer.fr/doc/00043/15456/>
- RANDRIAMAHATODY, Z. (2011).** *Valorisation biotechnologique des co-produits de crevette : Utilisation de la protéolyse enzymatique pour des applications avicoles à Madagascar. [En ligne], Université d'Antananarivo.* <https://archimer.ifremer.fr/doc/00043/15456/>
- Randriamahatody, Z., Randriamahatody, M., Ravonizafy, C., Ramananjaona, B., Rajaonarivony, M., Randrianatoro, H., & Rajoelisoa, A. (2011).** *Valorisation des coproduits de crevette (*Penaeus* spp.) par*

hydrolyse enzymatique. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 67(3), Article 3. <https://doi.org/10.19182/remvt.10173>

Ravoninjatovo, & al. (2015). *mené une étude comparative entre la composition biochimique des têtes de crevettes et la carapace; il en a conclu que les têtes sont plus riches importante en protéines que les carapaces. Lors d'une étude; menée par Randriamahatody (2011), il a été relevé des taux très élevés en protéines dans les têtes de crevettes qui étaient de l'ordre de 57%.*

reportlinker. (2022). *Dietary Supplement Industry 2023.*

https://www.reportlinker.com/market-report/Dietary-Supplement/514685/Dietary-Supplement?term=dietary%20supplement%20market&matchtype=b&loc_intereest=&loc_physical=9069716&utm_term=dietary%20supplement%20market&utm_campaign=transactionnel&utm_source=google&utm_medium=ppc&hsa_acc=9351230540&hsa_cam=15072746546&hsa_grp=135882784932&hsa_ad=566913527453&hsa_src=g&hsa_tgt=aud-839472440103:kwd-1507721468316&hsa_kw=dietary%20supplement%20market&hsa_mt=b&hsa_net=adwords&hsa_ver=3&gclid=Cj0KQCQjw1rqkBhCTARIsAAHz7K1UBtGTiAm0dVx9GyAw1-EqghArmS9aOoaqjFZ5_xx_gg76GKMpekYaAqcZEALw_wcB

Ricard-Blum, S., & Ruggiero, F. (2005). The collagen superfamily: From the extracellular matrix to the cell membrane. *Pathologie-Biologie*, 53(7), 430-442. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2004.12.024>

Rinaudo, M., Milas, M., & Dung, P. L. (1993). Characterization of chitosan. Influence of ionic strength and degree of acetylation on chain expansion.

International Journal of Biological Macromolecules, P.P.15(5), P.P.281-285.

[https://doi.org/10.1016/0141-8130\(93\)90027-J](https://doi.org/10.1016/0141-8130(93)90027-J)

Risso. (1816). (PDF) Croissance et exploitation de la crevette rouge *Aristeus antennatus* (risso, 1816) de la région algéroise (Algérie centrale). *ResearchGate*.

https://www.researchgate.net/publication/306120252_Croissance_et_exploitation_de_la_crevette_rouge_Aristeus_antennatus_risso_1816_de_la_region_algeroise_Algerie_centrale

Ritter, J. C. S., Budge, S. M., & Jovica, F. (2013). Quality analysis of commercial fish oil preparations. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(8), P.P.1935-1939. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5994>

Sahoré, A., D., & Abouattier, J., L. (2016). *QUELQUES MÉTHODES D'ANALYSE BIOCHIMIQUE DE PRODUITS ALIMENTAIRES*. <https://www.connaissancesavoirs.com/>

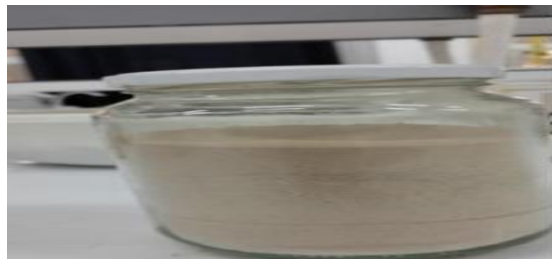
Seng, J. M. (1988). (PDF) *Applications and interest of chitin, chitosan and their derivatives in enology*. https://www.researchgate.net/publication/287846428_Applications_and_interest_of_chitin_chitosan_and_their_derivatives_in_enology

Stahl, E. (Éd.). (1969). *Thin-Layer Chromatography*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-88488-7>

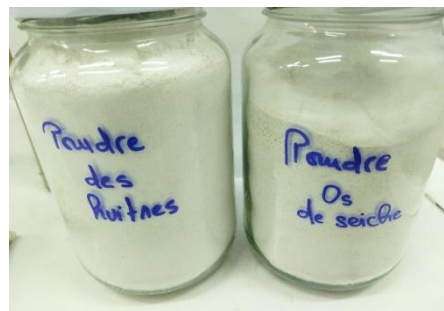
Stig, F., Kare, L., & Johan, S. (2017). *Food emulsions* (fourth edition). <https://doi.org/10.1201/9780203913222>

Suparno, & Poernomi, A. (1992). Fish waste utilisation in Indonesia. *ASEAN Food Journal (Malaysia)*. <http://agris.upm.edu.my:8080/dspace/handle/0/4819>

- Szydłowska-Czerniak, A., Dianoczki, C., Recseg, K., Karlovits, G., & Szlyk, E. (2008).** Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*, 76(4), P.P.899-905.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.04.055>
- Taouint, A. N. (2016).** *Préparation de chitosane à partir de la biomasse marine. Application au conditionnements des boues urbaines.*
<https://www.ummtto.dz/dspace/bitstream/handle/ummtto/765/THC%200363.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Tatar, B. C., Sumnu, G., & Sahin, S. (2017).** Chapter 17—Rheology of Emulsions. In J. Ahmed, P. Ptaszek, & S. Basu (Éds.), *Advances in Food Rheology and Its Applications* (P.P. 437-457). Woodhead Publishing.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100431-9.00017-6>
- Torche, S. (2021).** *Pharmacologie générale* [Université des Frères Mentouri Constantine1].
https://fac.umc.edu.dz/vet/Cours_Ligne/cours_20_21/Pharmaco_A3/Pharmacologie_Chap_2.pdf
- Truong, T., O., Hausler, R., Monette, F., & Niquette, P. (2007).** *Valorisation des résidus industriels de pêches po... Revue des sciences de l'eau / Journal of Water Science rerudit.* <https://www.erudit.org/en/journals/rseau/1900-v1-n1-rseau1812/016170ar/abstract/> (accessed 5.25.23)
- Wang S.L, Lin H.T, Liang T.W, Chen Y.Z, & Yen Y.H. (2008).** *Reclamation of chitinous materials by bromelain for the preparation of antitumor and antifungal materials. Bioresource Technology, 99 : P.P. 4386- 4393.*



Annexe 1: Broyage et tamisage des carapaces de crevettes



Annexe 2: Broyage et tamisage des coquilles des huîtres et los de seiche et

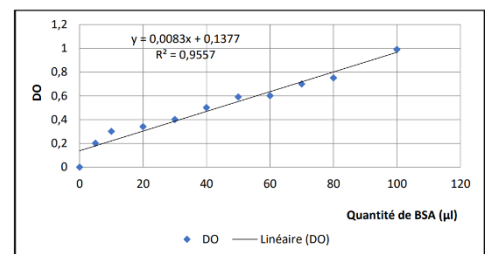


Four à moufle
Creuset

Incineration des échantillons dans le four à moufle



Extracteur de Soxhlet



Courbe d'étalonnage des protéines

Réactifs	Compositions	Quantités
2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl	DPPH	6 mg
	Méthanol	100 ml
Galvinoxyl	Galvinoxyl	4 mg
	Méthanol	100 ml
ABTS ^{•+} (7 mM)	ABTS	19,2 mg
	H ₂ O	5 ml
	K ₂ S ₂ O ₈ (2.45 mM)	3,3 mg
	H ₂ O	5 ml
Acétate d'ammonium	ACNH ₄	1,927 g
	H ₂ O	25 ml
Chlorure de cuivre	CuCl ₂ , 2H ₂ O	0,042625g
	H ₂ O	25 ml
Néocuproïne	Neocupronin	0,039 g
	MeOH	25 ml
Potassium de Ferricyanure de (1%)	K ₃ Fe(CN) ₆	1 g
	H ₂ O	100 ml
Acide tri-chloroacétique (10%)	TCA (10%)	1 g
	H ₂ O	10 ml
Chlorure de fer anhydre (0,1%)	FeCl ₃	0,1 g
	H ₂ O	100 ml
Chlorure de fer anhydre (0,2%)	FeCl ₃	0.02g
	H ₂ O	10ml
phénantroline (0,5%)	1,10-Phenanthroline	0.05g
	MeOH	10ml
Sulfate de fer (8mM)	FeSO ₄	22,24 mg
	7H ₂ O	10 ml
AgNP	AgNO ₃ (1.0 mM)	50 ml
	Trisodium citrate (1%)	5 ml

Annexe 5 : Réactifs pour l'étude des activités anti-oxydantes.

Annexe 6 : Réactifs pour l'étude des activités enzymatiques.

Réactifs	Compositions	Quantités
Antidiabétique		
Acide Chlorhydrique (1M)	H ₂ O	45.83 ml
	HCl pure	4.17 ml
Iodure de potassium iode IKI	KI	3 g
	H ₂ O	100 ml
	Iodine (5mM)	127 mg
Tampon	Tampon phosphate (pH 6.9)	100 ml
	6mM NaCl	35.1 mg

BMC : business model canva

Introduction

La valorisation des coproduits marins en Algérie est une question cruciale. Actuellement, une quantité importante de ces coproduits, comme les parties non commerciales des poissons et les coquilles, est gaspillée. Cependant, ces coproduits renferment des composants de grande valeur, tels que des protéines et des biomolécules, qui pourraient diversifier l'économie maritime et contribuer au développement durable. Pour exploiter pleinement ce potentiel, l'Algérie doit investir dans des infrastructures de transformation, établir des réglementations appropriées, sensibiliser les acteurs de l'industrie et fournir une formation adéquate. Cette approche pourrait réduire le gaspillage des ressources marines et soutenir une gestion plus responsable des océans.

Dans ce contexte notre projet qui est dans le cadre d'unité de production et commercialisation « **OCEAN VITA** » vise à créer une chaîne de production des compléments alimentaires et éléments fonctionnels. L'idée innovante de ce projet est du premier lien la valorisation des coproduits marins ce qui a contribué à la durabilité économique, d'autre part le développement des protocoles d'extractions des biomolécules marines, ainsi que la formulation, la production et la commercialisation de différents produits.

« **Sarl Ocean Vita** » est une entreprise spécialisée dans la production et la commercialisation de compléments alimentaires d'origine marine. Sa création était motivée par le désir de se positionner au sommet de vente sur le marché Algérien. Chez « **Océan Vita** », notre objectif est de développer des produits de santé de qualité supérieure qui répondent aux besoins du marché tout en contribuant à la santé et au bien-être des consommateurs. De plus, nous offrons à nos distributeurs un plan d'affaires que nous considérons comme le meilleur sur le marché.





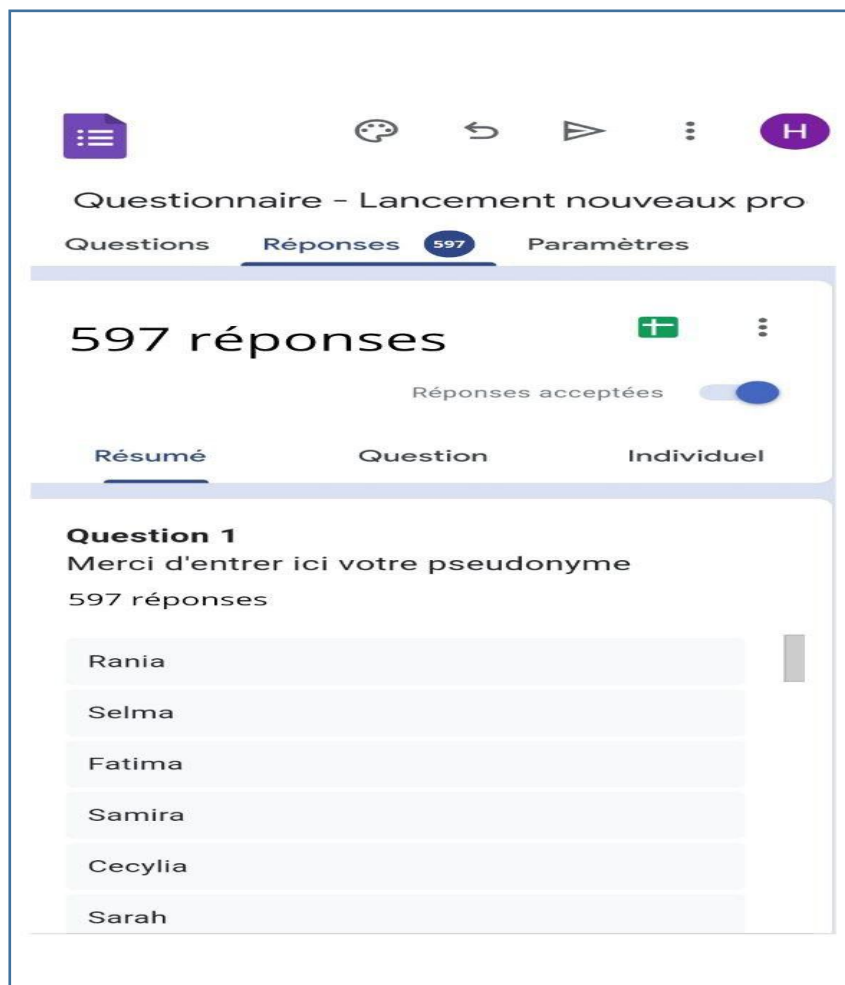
Le marché algérien des compléments alimentaires d'origine marine présente un potentiel de croissance, mais son développement dépendra de divers facteurs, notamment la réglementation, la concurrence internationale et la sensibilisation des consommateurs. Il est recommandé aux entreprises intéressées par ce marché de mener des recherches approfondies pour comprendre les tendances actuelles et les opportunités spécifiques qui se présentent.

Il faut noter que le marché algérien est dépourvu des compléments alimentaires d'origine marine. Pour cela la solution est la création d'une unité de production et de commercialisation locale.

Au cours de la réalisation de cette entreprise un sondage plus des enquêtes sur terrain été effectué.

Le sondage : a été effectué en ligne sur le lien ci-dessus :

https://docs.google.com/forms/d/e/1FAIpQLSd_XVChYJBdl8495DA2JHY_aWeBx1XzNgRLeVi_vDYWrBXnWQ/viewform?usp=sf_link



Les enquêtes sur terrain : ont été effectuées par présence personnelle au niveau des ports, des sociétés de production et des pharmacies et parapharmacies.



PXMR+7H6 Ultimate Health & Beauty,
Rue Bouiali, El Achour



ARVEA NATURE ALGERIE, route
périphérique, Ouled Fayet



56 lotissement EL AMEL, El Achour 13000



Parapharmacie L'Ambre Merveilleuse,
Unnamed Road, Chéraga



Q3J6+CWR, Rpe Chasse Loup Laudat,
Casbah 16000



Rue kassa adjenak, Baba Hassen 10681



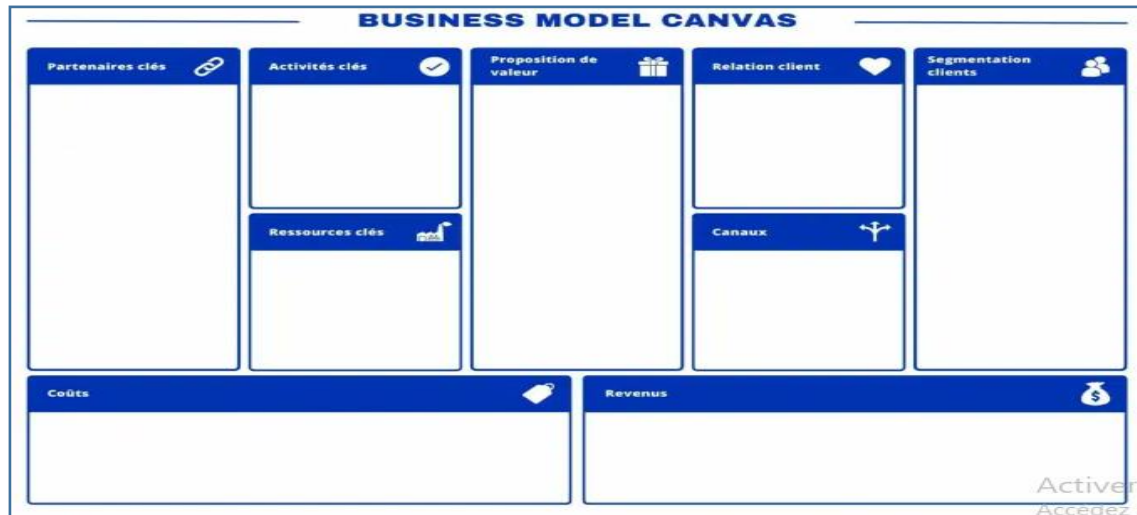
Port de collo wilaya de Skikda



Q386+F2F, Rue d'Angkor, Alger Ctre
16000

BMC business model canva

Le Business Model Canvas (BMC) aide à comprendre et à communiquer de manière structurée la logique fondamentale des entreprises. Cet outil révèle les composantes clés du modèle économique et stimule une réflexion approfondie sur les parties prenantes, les revenus, les coûts, les avantages concurrentiels et les opportunités de croissance. Il est utilisé dans la planification stratégique et le développement de nouveaux produits et services. Dans cette section de notre thèse, nous fournissons une explication détaillée du BMC pour notre startup, en décrivant toutes ses composantes. Cet outil de gestion stratégique est un cadre visuel qui se compose de neuf éléments clés. La figure illustre ces éléments clés.



1. Proposition de valeur :

Notre projet met en valeur l'utilisation exclusive d'ingrédients d'origine marine, tels que le collagène marin, les huiles de poisson et les coquillages, reconnus pour leurs propriétés nutritionnelles et bénéfiques pour la santé. Cette approche met en avant les avantages des nutriments marins, tels que les acides gras oméga-3, les antioxydants et les minéraux essentiels, pour améliorer la santé et le bien-être des consommateurs.

- **Pureté et Qualité Supérieure :** Nos compléments alimentaires d'origine marine sont fabriqués à partir de sources marines pures et de haute qualité, garantissant ainsi l'absence de contaminants nocifs.
- **Traçabilité :** Nous offrons une traçabilité complète de nos produits, de la source marine à la capsule, pour que les consommateurs puissent avoir confiance dans l'origine de leurs compléments alimentaires.
- **Soutien à la Durabilité Marine :** En choisissant nos produits, les clients contribuent à la préservation des écosystèmes marins grâce à notre engagement envers des pratiques de pêche durables.
- **Variété de Produits :** Notre gamme comprend une variété de compléments alimentaires d'origine marine pour répondre aux besoins spécifiques de chacun, que ce soit pour la santé cardiaque, la peau, les articulations, ou la santé cérébrale.

- **Expertise Scientifique** : Nos produits sont élaborés en collaboration avec des experts en nutrition, garantissant une efficacité optimale et une utilisation des dernières avancées scientifiques.
- **Satisfaction Garantie** : Nous offrons une garantie de satisfaction pour que les clients puissent essayer nos produits en toute confiance, sachant que leur satisfaction est notre priorité.
- **Collaborations avec des Professionnels de la Santé** : Nous travaillons en partenariat avec des professionnels de la santé pour recommander nos produits en toute confiance à leurs patients.
- **Prix Compétitifs** : Nous offrons des produits de haute qualité à des prix compétitifs, rendant ainsi les bienfaits des nutriments marins accessibles à un large public.
- **Transparence Totale** : Nous fournissons une transparence totale en ce qui concerne la composition de nos produits, les méthodes de fabrication et les résultats des tests de qualité.

2. Activités clés :

Les activités clés de l'unité de production et de commercialisation :

- **approvisionnement des Ingrédients** : Identifier et obtenir des extraits d'algues marines de qualité supérieure pour les compléments alimentaires.
- **Extraction et Transformation** : Extraire les acides gras oméga-3 à partir d'huiles de poisson, puis les encapsuler dans des gélules pour faciliter la consommation.
- **Recherche et Développement** : Travailler avec des scientifiques pour développer une nouvelle formule de complément alimentaire marin améliorant la santé.
- **Production** : Fabriquer les compléments alimentaires en suivant strictement les bonnes pratiques de fabrication (BPF) pour garantir la pureté.
- **Contrôle de la Qualité** : Effectuer des tests de laboratoire réguliers pour s'assurer que les produits sont exempts de contaminants.
- **Emballage et Étiquetage** : Créer des emballages informatifs et attrayants pour les compléments alimentaires, avec une étiquette claire des ingrédients et des informations nutritionnelles.
- **Distribution** : Mettre en place un réseau de distribution pour acheminer les produits vers des pharmacies locales et des boutiques en ligne.

- **Marketing et Promotion** : Élaborer des campagnes publicitaires mettant en avant les avantages pour la santé des oméga-3 marins.
- **Service Client** : Offrir une assistance téléphonique aux clients pour répondre à leurs questions sur les produits.
- **Collaborations Stratégiques** : Établir un partenariat avec un professionnel de la santé qui recommande les compléments à ses patients.
- **Gestion des Stocks** : Assurer un stock suffisant pour répondre à la demande, tout en évitant le gaspillage.
- **Conformité Réglementaire** : S'assurer que tous les produits et activités sont conformes aux réglementations alimentaires locales et internationales.
- **Suivi de la Recherche Scientifique** : Continuer à surveiller les études scientifiques sur les bienfaits des nutriments marins pour s'adapter aux dernières découvertes.
- **Éducation des Consommateurs** : Créer des ressources éducatives en ligne pour informer les consommateurs sur les avantages des compléments alimentaires marins pour la santé.

3. Les partenaires clés :

Les partenaires clés sont :

- **Fournisseurs d'Ingrédients** : Les entreprises qui fournissent les matières premières, telles que les fournisseurs d'algues, de poissons ou de coquillages, sont essentiels pour assurer un approvisionnement constant en ingrédients marins de qualité.
- **Laboratoires de Contrôle Qualité** : Des partenariats avec des laboratoires de contrôle qualité permettent de garantir la conformité des produits aux normes de sécurité et de qualité.
- **Partenaires de Distribution** : Les distributeurs, les détaillants en ligne, les pharmacies et d'autres partenaires de distribution aident à mettre les produits à la disposition des consommateurs.
- **Professionnels de la Santé** : Les médecins, les nutritionnistes et les diététiciens peuvent recommander vos compléments alimentaires à leurs patients, ce qui renforce la crédibilité de la marque.
- **Partenaires de Recherche** : Les partenariats avec des instituts de recherche ou des universités peuvent soutenir la recherche et le développement de nouvelles formulations ou de produits innovants (partenaires socioéconomique).

- **Agences de Réglementation** : Une collaboration avec les agences de réglementation est essentielle pour assurer la conformité aux réglementations locales et internationales en matière de sécurité alimentaire et d'étiquetage.
- **Fabricants de Capsules ou d'Emballages** : Les entreprises qui fournissent les matériaux d'emballage et les capsules sont cruciales pour la fabrication et la présentation de vos produits.
- **Partenaires Marketing et Publicitaires** : Les agences de marketing et les spécialistes en publicité peuvent aider à promouvoir vos produits et à atteindre un public plus large.
- **Associations Professionnelles** : Les affiliations à des associations professionnelles du secteur de la nutrition et de la santé peuvent offrir des opportunités de réseautage et de promotion.
- **Partenaires Logistiques** : Les entreprises de logistique aident à gérer le stockage, l'expédition et la distribution efficace de vos produits.
- **Conseillers Juridiques et Réglementaires** : Des partenaires juridiques spécialisés dans les questions réglementaires alimentaires peuvent être nécessaires pour naviguer dans un paysage réglementaire complexe.
- **Partenaires de Financement** : Les investisseurs, les prêteurs ou les partenaires financiers peuvent fournir le capital nécessaire pour la recherche, la production et la croissance de l'entreprise.

4. Les clients :

- **Consommateurs Individuels** : Les personnes soucieuses de leur santé qui cherchent à améliorer leur bien-être et à répondre à des besoins nutritionnels spécifiques, comme les personnes intéressées par la santé cardiaque, la beauté de la peau, la santé cérébrale, etc.
- **Professionnels de la Santé** : Les médecins, les nutritionnistes, les diététiciens et les autres professionnels de la santé qui recommandent des compléments alimentaires à leurs patients pour des besoins particuliers.
- **Pharmacies et Parapharmacies** : Les pharmacies, les magasins de produits naturels et les établissements de santé qui vendent des compléments alimentaires à des clients à la recherche de solutions de santé naturelles.

- **Détaillants en Ligne** : Les plateformes de vente en ligne qui commercialisent des produits de compléments alimentaires, offrant une plus grande accessibilité aux clients du monde entier.
- **Athlètes et Sportifs** : Les athlètes professionnels et amateurs qui cherchent à améliorer leurs performances et leur récupération grâce à des compléments alimentaires spécifiques.
- **Entreprises et Employés** : Les entreprises qui offrent des avantages en matière de bien-être à leurs employés peuvent acheter des compléments alimentaires pour promouvoir la santé de leur personnel.
- **Hôtels et Resorts** : Les établissements hôteliers qui proposent des services de bien-être peuvent inclure des compléments alimentaires dans leurs offres pour les clients.

5. Relations clients

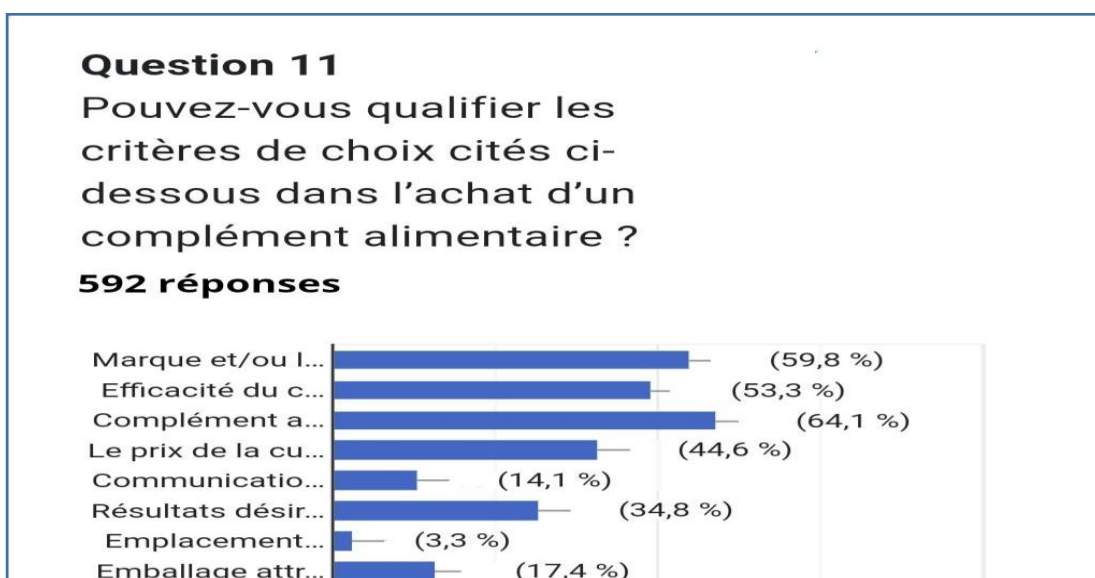
- **Communication Personnalisée** : Établir une communication personnalisée avec les clients en répondant rapidement à leurs questions, en offrant des conseils et en prenant en compte leurs besoins spécifiques en matière de santé.
- **Support Client** : Fournir un support client de haute qualité en formant le personnel pour répondre aux préoccupations des clients, résoudre les problèmes et gérer les retours de produits de manière professionnelle et efficace.
- **Programmes de Fidélisation** : Mettre en place des programmes de fidélisation pour récompenser les clients fidèles par le biais de réductions, d'offres spéciales ou d'autres avantages.
- **Suivi des Commentaires** : Collecter et analyser les commentaires des clients pour comprendre leurs préférences, leurs retours d'expérience et leurs besoins changeants.
- **Satisfaction Client** : Mesurer régulièrement la satisfaction client à l'aide de sondages ou de questionnaires pour identifier les domaines à améliorer.
- **Gestion des Réclamations** : Mettre en place un processus efficace de gestion des réclamations pour résoudre rapidement les problèmes des clients et maintenir leur confiance.
- **Communication de Marque** : Communiquer de manière transparente les valeurs de la marque, les normes de qualité et l'engagement envers la durabilité pour renforcer la confiance des clients.

- **Réseaux Sociaux et Médias** : Utiliser les réseaux sociaux et d'autres médias pour interagir avec les clients, répondre à leurs questions et partager des informations pertinentes.

les avis des participants de sondage cité précédemment sont illustrés dans les figures



suivantes :



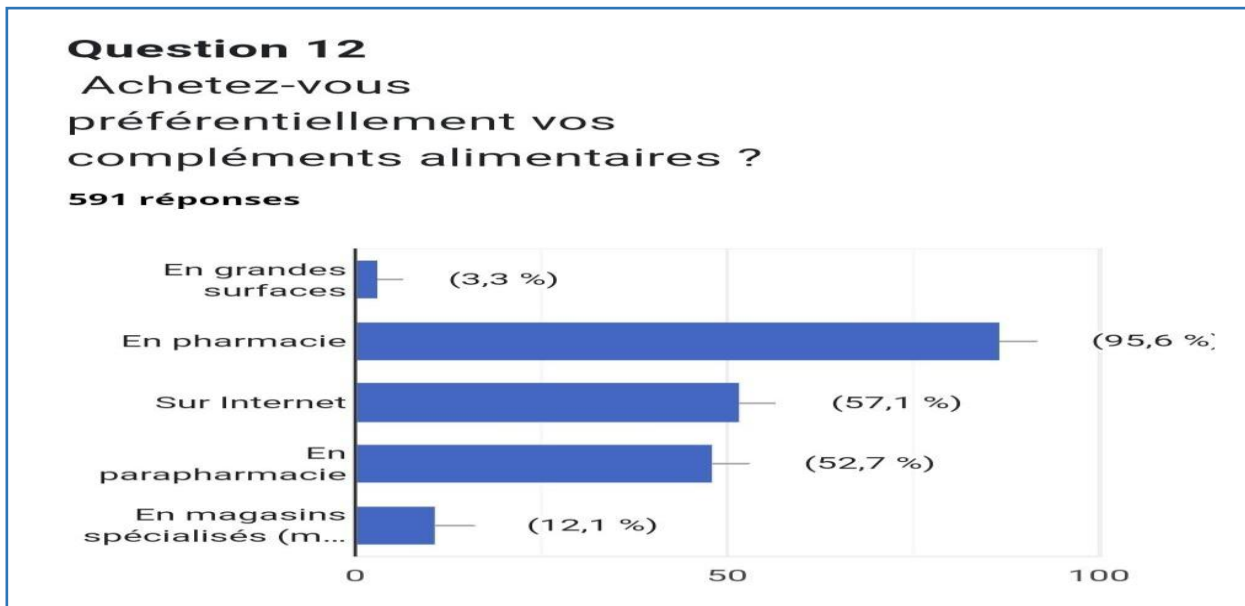
6. Les canaux de distributions :

Voici quelques canaux de distribution couramment utilisés :

- **Vente en Ligne (E-commerce) :** La vente directe via un site web dédié permet d'atteindre un public mondial. Les clients peuvent acheter en ligne et recevoir les produits à domicile.
- **Pharmacies et Magasins de Santé :** La distribution par le biais de pharmacies, de magasins de produits naturels et de boutiques spécialisées offre un accès aux clients qui recherchent des solutions de santé.
- **Vente au Détail en Magasins :** La commercialisation des produits dans les supermarchés, les épiceries et les grandes surfaces peut toucher un large public.
- **Professionnels de la Santé :** Les médecins, les nutritionnistes et les diététiciens peuvent recommander directement les compléments alimentaires à leurs patients.
- **Vente en Gros :** La vente en gros permet de distribuer des produits à d'autres entreprises, telles que des distributeurs ou des revendeurs.
- **Plateformes de Vente en Ligne de Tiers :** La vente sur des plateformes de commerce électronique tierces, telles qu'Amazon, peut élargir la visibilité des produits.
- **Canaux de Livraison à Domicile :** Utiliser des services de livraison à domicile ou des abonnements pour fournir régulièrement les produits aux clients.
- **Événements et Foires :** Participer à des salons, des foires ou des événements de bien-être pour vendre directement aux consommateurs et établir des contacts.
- **Vente Directe :** Avoir des équipes de vente sur le terrain pour présenter les produits directement aux clients potentiels.

- **Réseaux de Distribution Internationaux** : Si l'entreprise cible des marchés internationaux, elle peut travailler avec des distributeurs locaux dans chaque pays.
- **Vente par Téléphone** : Offrir un service de vente par téléphone pour prendre des commandes et répondre aux questions des clients.

Ainsi de cette partie on rajoute les résultats de sondage qui a été effectué :



Le capital social de la Sarl et de 1000000Da, distribué en égalités avec les deux gérantes (50% pour chacune)

Une part représente 10000Da

➤ **Les couts d'infrastructures:**

Les couts d'infrastructures	Montant	Duré d'amortissement (ans)	Amortissement	Colonne1
Location	150 000,00		/	
Matériel (Equipment) :			452 400,00	10ans
-Gélulier manuelle	4 000,00			
-Gélulier industrielle	1 000 000,00			
-compresseuse	500 000,00			
-centrifugeuse	200 000,00	5ans		
-plaque chauffante	500 000,00			
-Verreries	300 000,00			
-Réfrigérateur	70 000,00			
Mobilier de laboratoire	2 000 000,00			
		10ans	40 000,00	05ans

Totale	4 724 000,00 /	492 400,00
--------	----------------	------------

➤ **Les coûts de production et de fonctionnement :**

Le nombre total des produits mensuels sera 2000boites/mois au lancement du projet.

Les couts de production	Montant/mois	Column2
Matière première	30 000,00	
Réactifs	320 000,00	
Etiquetage et emballage	250 000,00	
Totale	600 000,00	±20000

8. Les ressources clés :

- **Ingrédients de Qualité :** L'accès à des sources d'ingrédients marins de haute qualité, tels que des extraits d'algues, d'huiles de poisson ou de coquillages.
- **Installations de Production :** Des installations de production modernes et conformes aux normes de sécurité alimentaire pour fabriquer les compléments alimentaires.
- **Expertise en Recherche et Développement :** Des experts en nutrition, en recherche marine et en formulation de produits pour développer des formules efficaces.
- **Équipes de Contrôle Qualité :** Des équipes dédiées au contrôle qualité pour s'assurer de la pureté, de la stabilité et de la sécurité des produits.
- **Personnel de Marketing et de Vente :** Des professionnels du marketing et de la vente pour promouvoir les produits et établir des partenariats de distribution.
- **Infrastructure Logistique :** Des systèmes de gestion de la chaîne d'approvisionnement et de distribution pour acheminer les produits vers les clients.
- **Capital Financier :** Les fonds nécessaires pour la recherche, le développement, la production, la commercialisation et la croissance de l'entreprise.
- **Partenariats Stratégiques :** Des collaborations avec des partenaires clés, tels que des fournisseurs, des distributeurs, des professionnels de la santé et des chercheurs.
- **Technologie et Systèmes d'Information :** Des systèmes informatiques pour la gestion des données client, des ventes en ligne et du suivi des stocks.
- **Propriété Intellectuelle :** La protection des droits de propriété intellectuelle pour les formules exclusives et les marques déposées.

- **Conformité Réglementaire** : Des ressources pour assurer la conformité aux réglementations locales et internationales en matière de sécurité alimentaire et d'étiquetage.
- **Recherche Scientifique** : L'accès à des études scientifiques et à des informations mises à jour sur les avantages des nutriments marins pour la santé.
- **Marque et Réputation** : La création et la gestion d'une marque solide et d'une réputation de qualité et de fiabilité.
- **Relations Clients** : Une équipe dédiée à la gestion de la relation client pour assurer la satisfaction des clients.
- **Éducation des Consommateurs** : Des ressources pour informer et éduquer les consommateurs sur les avantages des compléments alimentaires d'origine marine.

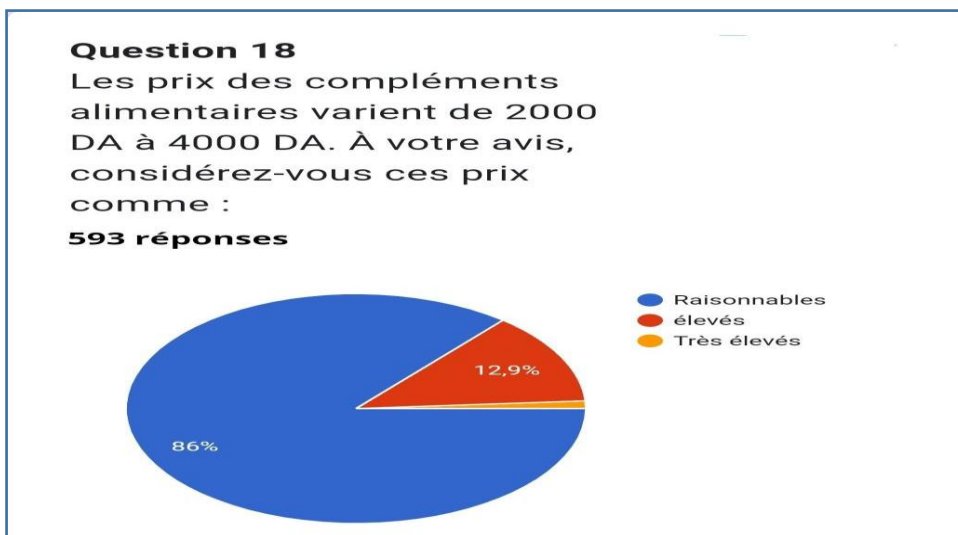
9. Les revenus :

- **Ventes directes aux consommateurs** : Ventes en ligne ou en magasin directement aux clients.
- **Ventes en gros** : Ventes en grande quantité à des détaillants ou à des distributeurs.
- **Programmes d'abonnement** : Revenus réguliers provenant de clients souscrivant à des abonnements pour des livraisons périodiques.
- **Ventes en ligne via des plateformes tierces** : Ventes de produits sur des plateformes de commerce électronique tierces.
- **Ventes dans les magasins physiques** : Ventes de produits dans des boutiques de santé, des pharmacies, etc.
- **Ventes à des professionnels de la santé** : Ventes à des médecins, des diététiciens, etc., qui recommandent vos produits.
- **Ventes à l'international** : Ventes de produits sur les marchés internationaux, si applicable.
- **Ventes lors d'événements** : Ventes réalisées lors de salons de santé, de foires commerciales, etc.
- **Ventes croisées et ventes incitatives** : Ventes de produits complémentaires ou de gammes supérieures à des clients existants.
- **Parrainage et marketing d'affiliation** : Revenus des programmes de parrainage ou d'affiliation.
- **Événements promotionnels** : Revenus provenant de promotions spéciales.
- **Publications et médias** : Revenus de la publication de livres, de vidéos, etc.

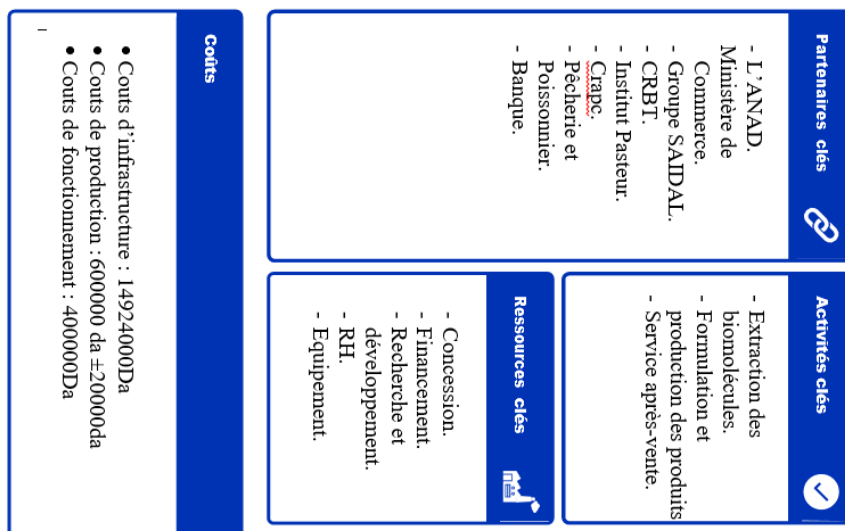
- **Recherche et développement pour des tiers** : Revenus provenant de la prestation de services de R&D à d'autres entreprises

➤ **Les couts des bénéfices :**

Après avoir l'avis des futurs clients et l'étude effectuée le prix des produits sera entre :



Column1	montant
Matière première	600 000,00
Couts de fonctionnement	400 000,00
Amortissement	492 400,00
Location	-
Cout de production	1 492 400,00
Prix de revient /01 unité	746,20
marge bénéficiare	373,10
Prix de vente /01 unité	1 119,30
Total encaissement	2 238 600,00
Bénéfice	746 200,00





الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Direction Générale de la Recherche
Scientifique et du Développement
Technologique



المديرية العامة للبحث العلمي
والتطوير التكنولوجي

Liste des Participants
« Salon national des produits de la recherche sous le thème de la sécurité
alimentaire », 2 & 3 juillet 2023

ENSSMAL

N°	Intitulé du produit	Porteur(s)
01	Algolife	BELARIBI Abdelaziz
02	Valorisation biotechnologique des co-produits marins et élaboration d'une variété de compléments alimentaires et aliments fonctionnels	CHEKIREB Lyna Abir
03	Valorisation d'une Souche d'Artemia	REDJEMI Mohamed Aimen



Résumé :

La présente étude a porté sur la valorisation des coproduits de la pêche et de l'aquaculture (les carapaces des crustacés, les peaux, les têtes, les viscères, foie et d'autres coproduits) ; l'extraction de différents biomolécules à haute valeur ajoutée dont : le chitosane, le collagène marin, les huiles, le squalène. Afin d'élaborer une gamme des compléments alimentaires et une crème dermato-cosmétique (crème psoriasis). La caractérisation biochimique des biomolécules a été entreprise, également pour les produits finis. Le chitosane est idéalement soluble dans une solution d'acide acétique à 1% avec une déacétylation 98% avec un rendement massique de 14%. Le collagène a été mis en évidence par les tests de biuret et de xanthoprotéine, ainsi que par SDS PAGE, avec un rendement massique de 22,5%. Quant au rendement massique de l'huile d'espadon obtenue est 33.3%. sa caractérisation par CCM et CGSM, a révélé la présence de taux importants d'acides gras polyinsaturés de la famille des oméga 3 (tels que le DHA et l'EPA). Par ailleurs, les rendements d'extraction du squalène par Soxhlet est très satisfaisant (90%). Le collagène extrait et le squalène possèdent les activités anti-inflammatoires les plus significatives. Le chitosane extrait des carapaces de crevettes possède une activité anti oxydante avérée ainsi qu'une activité anti diabétique (inhibition de l'alpha amylase). Après l'étude des propriétés pharmacologiques, ces molécules bioactives ont été formulées et conditionnées sous formes de gélules et des comprimés pour une utilisation en alimentation humaine (complément alimentaire et aliment fonctionnel...). Une émulsion a été également préparée pour une application topique. Les analyses microbiologiques, toxicologiques et de tolérances cutanées des produits élaborés sont satisfaisants et correspondent aux normes de pharmacopée.

Mots clés : coproduits pêche et aquaculture, biomolécules actives, propriétés pharmacologiques, complément alimentaire, aliment fonctionnel, émulsion, application topique.

Abstract :

The present study focused on the valorization of marine co-products and Aquaculture The present study focused on the valorisation of fishery and aquaculture co-products (crustacean shells, skins, heads, viscera, liver and other by-products); extracting different high-value biomolecules including chitosan, marine collagen, oils, and squalene. In order to develop a range of dietary supplements and a dermato-cosmetic cream (psoriasis cream), the biochemical characterisation of biomolecules was conducted, also for finished products. Chitosan is ideally soluble in 1% acetic acid solution with 98% deacetylation and a mass yield of 14%. Collagen was identified by biuret and xanthoprotein tests, as well as SDS PAGE with a mass yield of 22.5%. Regarding the mass yield of swordfish oil obtained, it is 33.3%. Its characterisation by TLC and GC-MS revealed the presence of significant levels of polyunsaturated fatty acids from the omega-3 family (such as DHA and EPA). Furthermore, the squalene extraction yields using Soxhlet were very satisfactory (90%). Collagen extract and squalene have the most significant anti-inflammatory activities. Chitosan extracted from prawn shells has proven antioxidant activity as well as anti-diabetic activity (inhibition of alpha-amylase). After studying the pharmacological properties, these bioactive molecules have been formulated and packaged as capsules and tablets for use in human nutrition (dietary supplements and functional food...). An emulsion has also been prepared for topical application. The microbiological, toxicological, and skin tolerance analyses of the developed products are satisfactory and meet pharmacopoeia standards.

Key words: fishery and aquaculture co-products, active biomolecules, pharmacological properties, food supplement, functional food, emulsion, topical application.

ملخص

هذه الدراسة سلطت الضوء على استغلال بقايا المنتجات البحرية و تربية المائيات (قشور القشريات، جلود الاسماك ، الرؤوس، الأحشاء، الكبد، ومنتجات أخرى)؛ واستخراج مجموعة متنوعة من الجزيئات البيولوجية عالية الجودة بما في ذلك: الشيتوزان ، والكولاجين البحري، والزيوت، وسكوالين.

تم ذلك بهدف تطوير مجموعة من المكملات الغذائية وكريمات العناية بالبشرة والتجميل.

تمت دراسة السمات الكيميائية للجزيئات البيولوجية، بالإضافة إلى المنتجات النهائية.

يتحلل الشيتوزان بشكل مثالي في محلول حمض الخل بنسبة 1% بتفكك نسبته 98% مع عائد إستخراج . % يقدر ب 14

تم تحليل الكولاجين باستخدام اختبار بيوري واختبار اكرنتو بروتين ، مع عائد إستخراج يقدر ب 22.5%.

عائد إستخراج زيت رأس سمك السيف يقدر ب 33%.

أظهر تحليل نوعي للزيت المستخرج بواسطة طريقة الكروماتوغرافيا السائلة الرقيقة وجود الأحماض (EPA و DHA مثل) الدهنية غير المشبعة من عائلة أوميغا 3

بالمثل، أظهر التحليل الكمي بواسطة الكروماتوغرافيا الغازية / الطيف الكتلي للزيوت المستخرجة تحديد 31 مكوناً مع وجود أربعة مكونات رئيسية: حمض الأوليك (28.13%)، حمض البالميتيك (20%)، (14%) DHA ، حمض دو كوسا هيكسائينويك (18%) EPA حمض إيكوسابنتاينويك

عائد استخراج السكوالين مرضي للغاية، حيث بلغ عائد الاستخراج 90% بالنسبة للاستخراج عن طريق المذيبات و 56% بالنسبة لطريقة الاستخراج الحراري

أظهرت نتائج الأنشطة المضادة للالتهاب أن الكولاجين المستخرج والسكوالين لذيهما نشاط مضاد . للالتهاب مرتفع

كشف تقييم النشاط المضاد لمرض السكري ومضاد الأكسدة للجزيئات عن نشاط ملحوظ للجزيئات المستخرجة .

بعد دراسة الخصائص الدوائية، تم إستعمال البيولوجية المستخرجة في تشكيل مكملات غذائية على شكل كبسولات و اقراص قابلة لاستهلاك البشري و ايضا تم تشكيل مستحضر الاستخدام الخارجي على شكل كريمة

تحاليل رقابة الجودة الميكروبيولوجية وتحمل الجلد واختبار السمية يوافق المعايير المعترف بها .

كلمات مفتاحية: بقايا المنتجات بحرية و تربية المائيات، جزيئات بيولوجية، خصائص . للاستخدام البشري دوائية، مكملات غذائية، أطعمة وظيفية، كريمات و مستحضرات تطبيق خارجي