

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 و تهينة 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 de Master et D'ingénieur en sciences de la Mer

Domaine : Sciences de la vie et de la nature.

Spécialité : biotechnologie marine .

Filière : Hydrobiologie Marine et Continentale

Thème :

Développement d'une formulation cosmétique à base d'algues marines et de chitosane.

Présenté par :

- ♦ TALIOUINE Khadidja.
- ♦ HAOUAS Maroua.

Soutenue le 24 / 06 / 2026 devant le jury suivant :

Mme LAHMER Nahla Maitre Assistante A ENSSMAL Présidente

Mme BOUKHAROUBA Aya Maitre de Conférences B ENSSMAL Examinatrice

Mme CHAOU Nadia Maitre Assistante A ENSSMAL Promotrice

Année universitaire : 2025/2026

Remerciements

Avant tout, nous remercions **Allah le Tout-Puissant** de nous avoir accordé la force, la patience et la volonté nécessaires pour mener ce travail à terme.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à notre encadrante **Mme CHAOU**, pour son accompagnement précieux, sa disponibilité, ses conseils avisés et son soutien tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Nos sincères remerciements s'adressent également aux membres du jury **Mme LAHMER** et **Mme BOUKHAROUBA** qui ont accepté d'évaluer ce travail et de lui accorder leur attention.

Nous remercions chaleureusement l'ensemble des enseignants du département de **DRV**, qui nous ont transmis leur savoir et contribué à notre formation académique et professionnelle.

Nous adressons aussi nos remerciements au personnel du laboratoire **Mme Houda, Mr. Yacine et Mr. Noureddine** pour leur aide technique, leur disponibilité et les moyens mis à notre disposition pour la réalisation de cette étude.

Enfin, nous exprimons notre gratitude la plus sincère à nos familles et à nos proches pour leur amour, leur soutien moral, leurs encouragements constants et leur confiance tout au long de notre parcours.

À toutes les personnes ayant contribué, de près ou de loin, à l'aboutissement de ce travail, nous adressons nos plus sincères remerciements.

Dédicace

Je tiens à dédier ce travail à ceux qui ont occupé une place essentielle dans mon parcours et qui m'ont soutenue tout au long de cette aventure.

À mes très chers parents,

À mon père,

Homme de principes, de courage et de détermination, merci pour tous les efforts et les sacrifices consentis afin de me permettre d'avancer et de réussir. Ton soutien constant, tes précieux conseils et la confiance que tu m'accordes depuis toujours ont été une véritable force pour moi. Je te serai éternellement reconnaissante pour tout ce que tu as fait.

À ma mère,

Symbole d'amour, de douceur et de générosité, merci pour ta présence rassurante, tes prières, ta patience et ton soutien inconditionnel. Tu as toujours été mon refuge dans les moments difficiles et ma plus grande source de motivation. Ce travail est aussi le fruit de ton affection et des sacrifices silencieux que tu as accomplis avec tant d'amour.

À mes chères sœurs Selma et Meriem,

Merci pour votre affection, votre soutien et votre présence précieuse dans ma vie. Vos encouragements, votre bienveillance et les beaux moments partagés ensemble m'ont apporté réconfort et sérénité tout au long de ce parcours. Je suis fière et heureuse de vous avoir à mes côtés.

À mon cher binôme,

Avec qui j'ai partagé les efforts, les défis, les moments de stress ainsi que les joies de cette expérience universitaire. Merci pour ta patience, ton sérieux, ton implication et cette belle collaboration qui a contribué à la réussite de ce projet.

À mes chers amis,

Merci pour votre présence, vos encouragements, votre soutien moral et tous les souvenirs inoubliables partagés ensemble. Votre amitié a rendu ce parcours plus agréable et rempli de beaux moments.

Enfin, à toutes les personnes

Qui ont contribué, de près ou de loin, à l'aboutissement de ce travail et qui m'ont soutenue durant cette étape importante de ma vie.

Je dédie ce mémoire avec une immense gratitude, un profond respect et beaucoup d'amour.

KHADIDJA

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à **mes très chers parents,**

À mon père,

pilier de ma vie, modèle de force, de courage et de sagesse. Merci pour tous les sacrifices consentis afin de m'offrir les meilleures opportunités, pour ton soutien indéfectible, tes encouragements constants et ta confiance en moi. Ta persévérance et les valeurs que tu m'as transmises ont toujours été une source de motivation. Que ce travail soit le témoignage de mon profond respect, de ma reconnaissance infinie et de tout mon amour.

À ma mère,

source inépuisable d'amour, de tendresse et de bienveillance. Merci pour tes prières, ton affection, ta patience et tous les sacrifices silencieux que tu as accomplis pour mon bonheur et ma réussite. Ton soutien inconditionnel m'a donné la force de surmonter les moments les plus difficiles. Aucun mot ne saurait exprimer toute la gratitude, l'amour et l'admiration que je te porte.

À mon cher frère Naim,

bien plus qu'un frère, une présence précieuse dans ma vie, une source de soutien, de force et de réconfort. Merci pour tes encouragements, ton soutien constant, ta bienveillance et tous les moments de réconfort que tu m'as apportés.

À ma chère binôme,

avec qui j'ai partagé cette belle aventure académique, les moments de stress, de travail intense mais aussi les instants de joie et de satisfaction. Merci pour ton implication, ta patience, ta collaboration et tous les efforts fournis tout au long de ce projet.

À mes chers amis,

véritable famille de cœur, merci pour votre présence, votre soutien, vos encouragements, vos conseils et tous les souvenirs précieux partagés ensemble. Votre amitié a rendu ce parcours plus beau et plus léger.

À toutes les personnes qui m'ont soutenue, de près ou de loin, dans la réalisation de ce travail.

Je dédie ce mémoire avec tout mon amour, ma gratitude et mon profond respect.

MAROUA

Résumé

Ce travail s'inscrit dans le cadre du développement de formulations cosmétiques naturelles et durables à partir de ressources marines. Il porte sur l'extraction et la valorisation de deux biopolymères d'intérêt cosmétique : l'alginate extrait de l'algue brune *Cystoseira compressa* récoltée sur les côtes algériennes et le chitosane obtenu à partir de carapaces de crevettes. Après leur extraction, plusieurs tests de caractérisation ont été réalisés, notamment les tests de solubilité, de gélification, de pH, l'analyse par spectroscopie FTIR ainsi que l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire. Les résultats obtenus ont confirmé les propriétés physicochimiques et biologiques des biopolymères extraits. Le chitosane a présenté un degré de désacétylation de 80 %, attestant de sa qualité et de son aptitude à une utilisation cosmétique.

Les deux biopolymères ont ensuite été incorporés dans une formulation cosmétique sous forme de sérum facial à visée hydratante et purifiante. Les analyses réalisées sur le produit fini ont montré une bonne stabilité physicochimique, une viscosité et une densité adaptées ainsi qu'une absence de contamination microbiologique. Les tests de tolérance cutanée n'ont révélaucune irritation après application. Cette étude met en évidence le potentiel de valorisation des ressources marines algériennes et des sous-produits de l'industrie halieutique dans le développement de produits cosmétiques naturels, innovants et respectueux de l'environnement.

Mots-clés : Alginate, chitosane, biopolymères marins, sérum facial, cosmétique naturelle, valorisation des ressources marines, biotechnologie marine.

Abstract

This study is part of the development of natural and sustainable cosmetic formulations based on marine resources. It focuses on the extraction and valorization of two biopolymers of cosmetic interest: alginate extracted from the brown alga *Cystoseira compressa* collected along the Algerian coast, and chitosan obtained from shrimp shells. Following extraction, several characterization tests were performed, including solubility, gelation, pH measurement, FTIR spectroscopy, and evaluation of anti-inflammatory activity. The results confirmed the physicochemical and biological properties of the extracted biopolymers. Chitosan exhibited a degree of deacetylation of 80%, demonstrating its quality and suitability for cosmetic applications.

The two biopolymers were then incorporated into a cosmetic formulation in the form of a moisturizing and purifying facial serum. Analyses of the final product revealed good physicochemical stability, appropriate viscosity and density, and the absence of microbiological contamination. Skin tolerance tests showed no signs of irritation after application.

This study highlights the potential of Algerian marine resources and fishery by-products for the development of innovative, natural, and environmentally friendly cosmetic products.

Keywords: Alginate, chitosan, marine biopolymers, facial serum, natural cosmetics, marine resource valorization, marine biotechnology.

ملخص

تندرج هذه الدراسة في إطار تطوير مستحضرات تجميل طبيعية ومستدامة اعتماداً على الموارد البحرية. وتهدف إلى استخلاص وتنمين بوليمرين حيويين ذوي أهمية تجميلية، هما الألبينات المستخلصة من الطحلب الذي تم جمعه من السواحل الجزائرية، والكتوزان المستخلص من قشور الروبيان *Cystoseira compressa* البني. بعد عملية الاستخلاص، أجريت عدة اختبارات للتوصيف شملت اختبارات الذوبانية، والتجبل، وقياس الأس الهيدروجيني، ، بالإضافة إلى تقييم النشاط المضاد للالتهابات. وقد أكدت النتائج الخصائص الفيزيائية والكيميائية FTIR وتحليل والبيولوجية للبوليمرات الحيوية المستخلصة. كما أظهر الكتوزان درجة نزع أسئلة بلغت 80٪، مما يدل على جودته وملاءمته للاستعمالات التجميلية.

بعد ذلك تم دمج البوليمرين الحيويين في تركيبة تجميلية على شكل سيروم للوجه ذي خصائص مرطبة ومنقية للبشرة. وأظهرت التحاليل المنجزة على المنتج النهائي استقراراً جيداً من الناحية الفيزيائية والكيميائية، ولزوجة وكثافة مناسبتين، مع غياب أي تلوث ميكروبيولوجي. كما بينت اختبارات التحمل الجلدي عدم ظهور أي علامات تهيج بعد الاستعمال تبرز هذه الدراسة الإمكانيات الكبيرة للموارد البحرية الجزائرية ومخلفات الصناعة السمكية في تطوير منتجات تجميلية مبتكرة وطبيعية وصديقة للبيئة.

الكلمات المفتاحية: الألبينات، الكتوزان، البوليمرات الحيوية البحرية، سيروم الوجه، مستحضرات التجميل الطبيعية، تنمين الموارد البحرية، التكنولوجيا الحيوية البحرية.

Table des matières

Liste des Tableaux.....	I
Liste des Figures.....	II
Liste des Abréviations	III
 INTRODUCTION	 1
 CHAPITRE I : GÉNÉRALITÉS	 3
 Partie 1	
Généralité sur les algues brunes	4
I.1.1 Définition et caractéristiques générales des algues brunes	4
I.1.2 Classification et caractéristiques biologiques	5
a Classification taxonomique complète	5
b Principaux ordres et exemples	6
Focus sur <i>Cystoseiraspp.</i>	6
I.1.3 Composition chimique des algues brunes	7
I.1.4 Répartition géographique des Phaeophyceae	9
1.4.1 Distribution à l'échelle mondiale	9
1.4.2 En Algérie	9
I.2 L'alginate	10
I.2.1 Historique	11
I.2.2 Définition	11
I.2.3 Structure chimique des alginates	12
I.2.4 Caractéristiques des alginates	13
2.4.1 Aspect physique	13
2.4.2 Rapport M/G (Mannuronique/Guluronique)	13
2.4.3 Masse molaire moyenne	14
2.4.4 Degré de polymérisation	14
I.2.5 Propriétés physico-chimiques	15
2.5.1 Viscosité	15
2.5.2 Solubilité	15
2.5.3 Gélification	16
2.5.4 pH	16
I.2.6 Applications pharmaceutique et alimentaire	16
I.2.7 Applications en cosmétique	17

Partie 2

Généralités sur les crustacés	17
3.1 Les différentes espèces de crevette	18
3.2 Les co-produits de la crevette	19
3.3 La chitine	20
3.3.1 Définition	20
3.3.2 Structure chimique de la chitine	21
3.3.3 Sources de la chitine	21
3.3.4 Propriétés physico-chimiques	22
3.4 Le chitosane	22
3.4.1 Définition	23
3.4.2 Structure chimique du chitosane	23
3.4.3 Propriétés physico-chimiques du chitosane	25
3.4.4 Méthodes d'extraction du chitosane	26
3.4.5 Applications du chitosane	27
3.4.5.1 Applications cosmétique	27
3.4.5.3 Applications cosmétiques	28

CHAPITRE II : MATÉRIEL ET MÉTHODES.....29

1.Travail sur terrain	29
1.1 Présentation du site d'étude	29
1.2 Récolte des algues	30
1.3 Transport et conservation des échantillons	31
2.Travail au laboratoire	32
2.1 Identification de l'algue récoltée	32
2.2 Matériel utilisé	33
2.3 Produits chimiques et réactifs	34
3.Extraction de l'alginate	35
3.1 Préparation des algues	35
3.2 Extraction de l'alginate	36
3.3 Purification de l'alginate	37
3.4 Calcul du rendement	38
4. Extraction du chitosane.....	41
4.1 Préparation des carapaces de crevettes	41
4.2 Déprotéinisation	41
4.3 Déminéralisation	43
4.4 Désacétylation	45
4.5 Purification et séchage	47
5.Tests de caractérisation	47
5.1 calcule du rendement.....	48
5.2 Test de solubilité	48
5.3 Mesure du pH	45
5.4 Test de gélification	45
5.5 Détermination du degré de désacétylation	46

5.6 Détermination de la teneur en humidité	47
5.7 Test des polysaccharides	48
5.8 Analyse FTIR	49
5.9 Évaluation de l'activité anti-inflammatoire	49
6. Formulation du sérum hydratant	50
6.1 Préparation du sérum	51
6.2 Composition de la formulation	52
7. Contrôle qualité du produit fini	53
7.1 Contrôle physico-chimique	53
7.1.1 Mesure du pH	53
7.1.2 Test de viscosité	54
7.1.3 Mesure de densité	54
7.1.4 Observation microscopique	56
7.2 Étude de stabilité	56
7.2.1 Test de stabilité par centrifugation	56
7.2.2 Test de stabilité de conservation	57
7.3 Contrôle microbiologique	58
7.3.1 Recherche de la flore aérobie mésophile totale	59
7.3.2 Recherche des levures et moisissures	59
7.3.3 Recherche des germes pathogènes	60
7.4 Test d'irritation cutanée	61

CHAPITRE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	64
1. Identification de l'algue récoltée	65
2. Résultats de l'extraction de l'alginate	65
2.1 Calcul du rendement	65
2.2 Test de solubilité	66
2.3 Mesure du pH	66
2.4 Test de gélification	68
2.5 Analyse FTIR de l'alginate	69
2.6 Test des polysaccharides	74
2.7 Activité anti-inflammatoire de l'alginate	75
3. Résultats de l'extraction du chitosane	75
3.1 Calcul du rendement.....	75
3.2 Test de solubilité	76
3.3 Détermination de la teneur en humidité	77
3.4 Détermination du degré de désacétylation	78
3.5 Test de gélification	80
3.6 Mesure du pH	80
3.7 Analyse FTIR du chitosane	81
3.8 Activité anti-inflammatoire du chitosane	85
4. Résultats du contrôle du produit fini	86
4.1 Contrôle physico-chimique	86

4.1.1 Mesure du pH	86
4.1.2 Test de viscosité	88
4.1.3 Mesure de densité	88
4.1.4 Observation microscopique	89
4.2 Étude de stabilité	89
4.2.1 Test de stabilité par centrifugation	89
4.2.2 Test de stabilité de conservation	89
4.3 Contrôle microbiologique	90
4.3.1 Recherche de la flore aérobie mésophile totale	91
4.3.2 Recherche des levures et moisissures	92
4.3.3 Recherche des germes pathogènes	93
4.4 Activité anti-inflammatoire du sérum	94
4.5 Test d'irritation cutanée	95
CONCLUSION GÉNÉRALE	99
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	102
ANNEXES	105

Liste des tableaux

Tableau 01 : Classification des algues marines	5
Tableau 02 : Principaux ordres des algues brunes	10
Tableau 03 Classification de <i>Cystoseira</i>	10
Tableau 04 : Composition chimique des algues brunes	25
Tableau 05 :Composition des carapaces de crevettes.....	31
Tableau 06 : Résultat du test de solubilité de l'alginate	62
Tableau 07 : Comparaison entre l'alginate commercial et l'alginate extrait	66
Tableau 08 :Comparaison de la solubilité du chitosane dans l'eau distillée et l'acide acétique	69
Tableau 09 : Comparaison entre le chitosane commercial et le chitosane extrait	75
Tableau 10 : Résultats des analyses microbiologiques du sérum	83
Tableau 11 : Résultats du test d'irritation cutanée	87

Liste des figures

Figure 01 : Algues brune (<i>Cystoseira compressa</i>)	5
Figure 02 : Répartition géographique des principales zones de présence d'algues brunes le monde	10
Figure 03 : Structure chimique de l'alginate	12
Figure 04 : Aspect physique des alginates.	13
Figure 05 : Quelques espèces de crustacés.....	18
Figure 06 : Structure chimique du chitosane.....	24
Figure 07 : Distribution mondiale du marché du chitosane selon les régions en 2023....	25
Figure 08 : Rochet plat Tipaza	30
Figure 09 :Collecte manuelle des algues sur site.....	31
Figure 10 :Transport des algues dans l'eau de mer.....	31
Figure 11 :Lavage des algues.....	32
Figure 12 :Séchage dans l'étuve à 40°C.....	32
Figure 13 :Poudre d'algues obtenue après broyage.....	33
Figure 14 : Traitement acide.....	34
Figure 15 :Extraction alcaline.....	34
Figure 16 :Précipitation de l'alginate.....	35
Figure 17 :L'alginate après séchage.....	36
Figure 18 :Schéma récapitulatif de l'extraction de l'alginate	36
Figure 19 :Appareil de spectrophotomètre FTIR.....	39
Figure 20 :Nettoyage des crevettes avant traitement.....	42
Figure 21 :Séchage des carapaces de crevettes.....	42
Figure 22 :Broyage et tamissage.....	43
Figure 23 :Déminéralisation des carapaces de crevettes par HCl.....	44
Figure 24 : Déprotéinisation des carapaces de crevettes par NaOH	44
Figure 25 :Désacétylation de la chitine.....	45
Figure 26 :Obtention du chitosane.....	45
Figure 27 :Schéma simplifié des étapes d'obtention du chitosane.....	47
Figure 28 :Flacons de sérum soumis à une stérilisation à l'autoclave.....	50

Figure 29 :Préparation aseptique du matériel et la pailleasse.....	51
Figure 30 :Incorporation de la solution de chitosane dans la phase alginate.....	52
Figure 31 :La base du sérum.....	52
Figure 32 :Observation au microscope optique.....	56
Figure 33 :Préparation de la solution mère.....	58
Figure 34 :Protocole d'inhibition de la dénaturation de l'albumine.....	61
Figure 35 :Zone de la peau du lapin rasée avant application du sérum.....	63
Figure 36 :Zone de la peau du lapin rasée après l'application du sérum.....	63
Figure 37 :Identification de l'algue récoltée <i>Cystoseira compressa</i>	65
Figure 38 :Solubilité de l'alginate dans l'eau distillée.....	67
Figure 39 : Insolubilité de l'alginate dans l'acétone	67
Figure 40 :Insolubilité de l'alginate dans l'éthanol.....	67
Figure 41 :Mesure du pH d'une solution d'alginate extrait.....	68
Figure 42 :Formation de gel après le goutte-à-goutte dans une solution de CaCl_2	69
Figure 43 : Spectre infra-rouge de l'alginate extrait.....	70
Figure 44 :Spectre infra-rouge de l'alginate commerciale.....	71
Figure 45 : Apparition d'une coloration violette.....	74
Figure 46 :Comparaison de l'activité anti-inflammatoire de l'alginate et diclofénac....	75
Figure 47 : Insolubilité du chitosane dans l'eau distillée.....	76
Figure 48 :Solubilité du chitosane dans l'acide acétique.....	76
Figure 49 :Masse du creuset après séchage.....	77
Figure 50 :Diagramme circulaire représentant le degré de désacétylation du chitosane obtenu.....	78
Figure 51 :Titrage acido-basique.....	78
Figure 52 :Apparition d'une coloration rose stable à l'équivalence.....	78
Figure 53 :Formation d'un gel dans l'acide acétique.....	79
Figure 54 :Mesure du pH du chitosane extrait.....	81
Figure 55 :Spectre infra-rouge du chitosane extrait	82
Figure 56 :Spectre infra-rouge du chitosane commercial.....	85
Figure 57 :Produit fini	86

Figure 58 :Mesure de pH du sérum.....	86
Figure 59 :Stabilité du sérum a température ambiante pendant 1 mois.....	87
Figure 60 :Stabilité du sérum dans un milieu froid pendant 1 mois.....	88
Figure 61 :Observation microscopique du sérum.....	89
Figure 62 :Mesure de la viscosité du produit fini	89
Figure 63 :Mesure de la densité à l'aide du densimètre Anton Paar DMA 35.....	90
Figure 64 : Flore mésophile aérobie totale sur milieu PCA.....	92
Figure 65 : Aspect de la flore fongique isolée sur milieu SABORAUD	93
Figure 66 : Milieu Baird-Parker après incubation.....	93
Figure 67 : Milieu VRBL après incubation.....	94
Figure 68 : Milieu cétrimide après incubation.....	94
Figure 69 : Pourcentage d'inhibition du sérum comparé au diclofénac.....	96
Figure 70 : Observation après 24 h (aucune irritation)	97
Figure 71 : Observation après 48 h (aucune irritation)	97
Figure 72 :Observation après 72 h (aucune irritation)	97
Figure 73 : Témoin positif d'un sérum hydratant contenant des huiles essentielles.....	98

Liste des Abréviations

BSA :Albumine de Sérum Bovin

CaCl₂ :Chlorure de Calcium

C–H :Liaison Carbone–Hydrogène

C–O :Liaison Carbone–Oxygène

C–O–C :Liaison Ether

CH₂ :Groupe Méthylène

CH₃ :Groupe Méthyle

cm :Centimètre

COO⁻ :Groupement Carboxylate

DD :Degré de Désacétylation

FAMT :Flore Aérobie Mésophile Totale

FTIR :Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier

g :Gramme

H⁺ :Ion Hydrogène

mPa.s :Millipascal.seconde

Na₂CO₃ :Carbonate de Sodium

NH₂ :Groupe Amine

NH₃⁺ :Ion Ammonium

O–H :Groupe Hydroxyle

PCA :Plate Count Agar

pH :Potentiel Hydrogène

rpm :Tours par minute

UFC :Unité Formant Colonie

UFC/ml :Unité Formant Colonie par millilitre

VRBL :Violet Red Bile Lactose

TSE : Tryptone Sel Eau.

INTRODUCTION

Les biopolymères naturels occupent aujourd'hui une place importante dans les domaines pharmaceutique, cosmétique et biomédical grâce à leurs propriétés biologiques et leur caractère biodégradable. Parmi ces biopolymères, l'alginate et le chitosane suscitent un intérêt croissant en raison de leurs propriétés gélifiantes, hydratantes, biocompatibles et anti-inflammatoires **(Rinaudo, 2006 ; George et Abraham, 2006)**.

Les alginates sont des polysaccharides anioniques extraits principalement des algues brunes appartenant aux phéophycées. Ils sont constitués d'unités d'acide mannuronique et guluronique et sont largement utilisés dans l'industrie alimentaire, pharmaceutique et cosmétique pour leurs propriétés épaississantes, stabilisantes et gélifiantes **(Draget et al., 2006)**. Les algues brunes représentent ainsi une source naturelle importante de biomolécules à forte valeur ajoutée. Le chitosane, quant à lui, est un biopolymère obtenu par désacétylation de la chitine présente dans les carapaces de crustacés tels que les crevettes et les crabes. Grâce à sa biocompatibilité, son pouvoir filmogène et ses propriétés antimicrobiennes et cicatrisantes, le chitosane est largement exploité dans les formulations pharmaceutiques et dermocosmétiques **(Younes et Rinaudo, 2015)**.

L'intérêt porté à ces biopolymères s'inscrit dans une démarche de valorisation des ressources naturelles marines et des déchets biologiques issus de l'industrie halieutique. En Algérie, le littoral méditerranéen constitue une richesse importante en biodiversité marine, notamment en algues brunes, dont le potentiel industriel demeure encore insuffisamment exploité. Par ailleurs, les déchets de crustacés représentent une source abondante de chitine pouvant être valorisée pour la production de chitosane. Grâce aux avancées en biotechnologie et en chimie des biomatériaux, plusieurs études se sont orientées vers l'exploitation de ces composés naturels dans le développement de produits cosmétiques innovants.

Les propriétés hydratantes, filmogènes et apaisantes de l'alginate et du chitosane permettent leur incorporation dans des formulations destinées aux soins cutanés **(Peppas et al., 2000)**.

Dans ce contexte, cette étude s'intéresse à l'extraction, la caractérisation et la valorisation de l'alginate extrait de l'algue brune *Cystoseira compressa* ainsi que du chitosane obtenu à partir des carapaces de crevettes.

L'objectif principal est d'évaluer leurs propriétés physicochimiques et biologiques, puis de les exploiter dans la formulation d'un sérum hydratant à usage dermocosmétique. Pour cela, des analyses morphologiques, physicochimiques et spectroscopiques ont été réalisées afin de confirmer l'identification de l'algue récoltée et de caractériser les biopolymères extraits. Plusieurs tests ont également été effectués, notamment les tests de solubilité, de gélification, de FTIR, de viscosité ainsi que l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire. Enfin, un contrôle qualité du produit fini a été réalisé afin d'évaluer sa stabilité, son innocuité microbiologique et sa tolérance cutanée.

Notre mémoire est composé de trois chapitres :

- Le premier chapitre présente des généralités sur les algues brunes, l'alginate et le chitosane, ainsi que leurs propriétés biologiques et leurs domaines d'application.
- Le deuxième chapitre décrit le matériel et les méthodes utilisées pour l'extraction et la caractérisation de l'alginate et du chitosane, ainsi que la formulation du sérum hydratant et les différentes analyses réalisées sur le produit fini.
- Le troisième chapitre présente les résultats obtenus ainsi que leur interprétation et leur discussion, portant sur la caractérisation des biopolymères, l'activité anti-inflammatoire et le contrôle qualité du sérum formulé.

CHAPITRE I :

Généralités

Partie 1

Généralité sur les algues brunes

I.1.1 Définition et caractéristiques générales des algues brunes

Les algues brunes, regroupées au sein de la classe des Phaeophyceae et appartenant au super-groupe des Straménopiles, représentent la composante la plus complexe et la plus structurée des écosystèmes marins côtiers. Elles se définissent biologiquement par une organisation multicellulaire avancée, dont la morphologie peut varier de simples filaments microscopiques à des thalles géants dépassant plusieurs dizaines de mètres de long, comme c'est le cas chez les *Macrocystis* ou les grandes Laminaires (**Payri, 2021**).

Leur trait distinctif majeur réside dans leur appareil pigmentaire : la présence massive de fucoxanthine, un pigment caroténoïde accessoire, masque les chlorophylles aet c, leur conférant cette teinte caractéristique allant du brun olive au jaune doré, optimisée pour la capture de la lumière en milieu aquatique profond (**Roland et al., 2008**).

Au-delà de leur apparence, les algues brunes se caractérisent par une biochimie unique, notamment au niveau de leur paroi cellulaire. Celle-ci est composée d'une armature de cellulose incluse dans une matrice gélatineuse de polysaccharides spécifiques, les alginates, et de polymères sulfatés appelés fucanesoufucoïdanes(**CollicJouault, 1990**).

Ces composés jouent un rôle crucial dans la protection contre la dessiccation lors des marées basses et assurent la flexibilité nécessaire pour résister aux forces hydrodynamiques du ressac. En termes de métabolisme, ces organismes se distinguent radicalement des plantes terrestres par leurs produits de réserve ; ils ne stockent pas d'amidon, mais de la laminarine (un glucane soluble) et du mannitol, des sucres qui facilitent également l'osmorégulation face aux variations de salinité (**Benchabane, 1988**).

Cette complexité structurelle est complétée par une différenciation tissulaire remarquable chez les ordres les plus évolués, tels que les Fucales et les Laminariales, qui possèdent des flotteurs (pneumatocystes) et parfois des tissus conducteurs analogues au phloème des plantes supérieures (**Roland et al., 2008 ; Payri, 2021**).

Ainsi, les Phaeophyceae ne sont pas de simples "plantes primitives", mais des organismes hautement spécialisés dont les propriétés chimiques et biologiques continuent de susciter un intérêt majeur dans les domaines de la pharmacologie et de l'agroalimentaire (**Benchabane, 1988 ; CollicJouault, 1990**).



Figure 1 : Algue brune (*Cystoseira compressa*)

I.1.2. Classification et caractéristiques biologiques

a Classification taxonomique complète

Les algues brunes font partie du groupe des eucaryotes et forment une catégorie spécifique d'algues qui photosynthétisent, surtout dans les mers. Selon les systèmes de classification anciens et modernes basés sur des aspects morphologiques, cytologiques, et moléculaires, voici leur classification :

Tableau01 : Classification des algues brunes (*phaeophyceae*).

Niveau taxonomique	Classification
Domaine	Eukaryota
Règne	Chromista
Embranchement	Ochrophyta
Classe	Phaeophyceae

b Principaux ordres et exemples

Les Phaeophyceae se répartissent en plusieurs ordres taxonomiques majeurs, parmi lesquels certains se distinguent par leur importance écologique et leur représentativité au sein des algues brunes.

Tableau 02 : Principaux ordres des algues brunes.

Ordres	Exemples	Profil biologique écologique
Fucales	<i>Fucus vesiculosus</i> , <i>Ascophyllum nodosum</i> , <i>Sargassum muticum</i>	Caractéristiques : Thalle robuste, présence de pneumatocystes (flotteurs). (Luning 1990)
Laminariales	Laminaire digitale, <i>Macrocystis pyrifera</i> (jusqu'à 60 m de long).	Rôle écologique : Formation de « forêts sous-marines ». (Bartsch et al., 2008)
Dictyotales	<i>Dictyota dichotoma</i> , <i>Padina pavonica</i>	Morphologie : Thalle en lame aplatie et calcifiée (Graham et al., 2009)
Ectocarpales	<i>Ectocarpus siliculosus</i> (modèle en biologie moléculaire).	Reproduction : Production d'ectocarpène (attractant sexuel)
Sphacelariales	<i>Sphacelaria cirrosa</i> , <i>Halopteris scoparia</i>	Habitat : Zones intertidales rocheuses.

Focus sur *Cystoseira* spp.

Le genre *Cystoseira*, largement représenté le long du littoral méditerranéen, notamment sur

les côtes algériennes, appartient à l'ordre des Fucales et à la famille des Sargassaceae.
Classification taxonomique :

Tableau 03 : Classification de *Cystoseira*

Niveau taxonomique	Classification
Ordre	Fucales
Famille	Sargassaceae
Genre	<i>Cystoseira</i>
Espèce	<i>Cystoseira compressa</i>

Cette espèce se caractérise par un thalle arborescent à ramification dichotomique régulière, portant fréquemment des vésicules aérifères qui contribuent à sa flottabilité. Comme l'ensemble des Phaeophyceae, elle est marquée par la dominance de la fucoxanthine, pigment photosynthétique responsable de sa teinte brun-olivâtre (Guiry&Guiry, 2023). *Cystoseira compressa* se développe principalement dans les zones côtières peu profondes, fixée sur des substrats rocheux soumis à un hydrodynamisme modéré (Gómez-Garreta et al., 2001). Les peuplements qu'elle forme constituent de véritables habitats structurants, favorisant la biodiversité marine en offrant refuge et ressources trophiques à de nombreuses espèces, tout en participant à la stabilisation des sédiments littoraux (Ballesteros, 1990 ; Schiel& Foster, 2006).

I.1.3 Composition chimique des algues brunes

Les algues brunes (Phaeophyceae) constituent un groupe majeur de macroalgues marines, largement étudié pour leur exceptionnelle richesse en composés bioactifs d'intérêt biologique, nutritionnel, cosmétique et pharmaceutique. Leur composition chimique varie selon l'espèce, la saison, la latitude, la profondeur et les conditions environnementales, mais certaines caractéristiques demeurent constantes (Gómez &Huovinen, 2011 ; Guiry&Guiry, 2023).

Tableau 4 : Composition chimique des algues brunes (*phaeophyceae*)

Catégorie	Composés principaux	Fonctions/ Intérêt
Polysaccharides	Alginate, laminarine, fucoïdane	Propriétés gélifiantes, hydratantes, activité antioxydante, immunomodulatrice, anticoagulante. (Drag et al., 2005 ; Rioux et al., 2007 ; Fitton, 2011)
Polyphénols	Phlorotannins	Activité antioxydante, anti inflammatoire, photoprotectrice, antimicrobienne (Shibata et al., 2008 ; Heffernan et al., 2015)
Lipides	Acides gras polyinsaturés (EPA, DHA, oméga-3)	Santé cardiovasculaire, fonction cérébrale, activité anti-inflammatoire (Plaza et al., 2008 ; Schmid et al., 2014)
Minéraux	Calcium, iode, fer, potassium, magnésium	Métabolisme cellulaire, santé osseuse, régulation thyroïdienne, équilibre électrolytique (Rupérez, 2002 ; Teas et al., 2004)

I.1.4. Répartition géographique des Phaeophyceae

1.1.1. Distribution à l'échelle mondiale

Les algues brunes colonisent majoritairement les écosystèmes marins des zones tempérées et subpolaires. Leur développement est optimal dans les eaux froides, riches en nutriments et bien oxygénées, où elles constituent souvent la base structurelle de vastes forêts de kelp (macrocystis, laminaires).

Ces formations représentent des points chauds de biodiversité et jouent un rôle écologique de premier plan en tant qu'habitats et zones de nurserie (Steneck et al., 2002).

La densité et la diversité spécifique des Phaeophyceae se concentrent dans plusieurs provinces biogéographiques majeures :

Pacifique Nord : Cette zone, incluant les côtes du Japon, de la Corée et de l'Amérique du Nord (Canada, USA), est considérée comme l'un des foyers de diversité les plus riches au monde, (Global Ecology and Biogeography, 2022).

Atlantique Nord : Les littoraux européens (Norvège, Islande, Îles Britanniques et Bretagne) abritent des biomasses considérables, dominées par les ordres des Laminariales et des Fucales.- (Helgoland Marine Research, 2010)

Bassin Méditerranéen : Bien que la diversité y soit inférieure à celle de l'Atlantique, la Méditerranée (partie occidentale notamment) possède des espèces endémiques et des peuplements originaux, bien que vulnérables aux changements thermiques (Gómez Garreta et al., 2001).

Hémisphère Sud et Océan Austral : Les côtes du Chili, de l'Afrique du Sud et de la Nouvelle-Zélande présentent des peuplements massifs de grands kelps adaptés aux conditions de mer ouverte, (Global Ecology and Biogeography, 2022).

D'un point de vue écologique, on distingue deux modes de vie principaux au sein de cette classe :

Les espèces benthiques : Solidement fixées au substrat rocheux par un crampon (ex: *Laminaria digitata* et *Fucus serratus*).

Les espèces pélagiques ou flottantes : Certaines algues, à l'instar de *Sargassum natans*, mènent une existence libre à la surface de l'eau grâce à des aérocystes (vésicules gazeuses), formant parfois de gigantesques amas mobiles comme dans la mer des Sargasses (Encyclopædia Universalis, Écologie et répartition des Phaeophyceae, 2026).

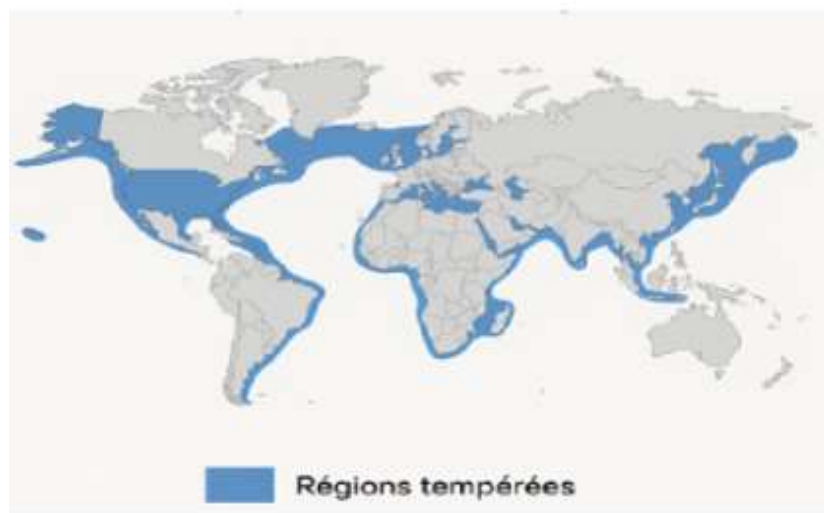


Figure 02 : Répartition géographique des principales zones de présence des algues brunes dans le monde (Stiger-Pouvreau & Thouzeau, 2015).

1.4.2 En Algérie

S'étendant sur plus de 2148 km, le littoral méditerranéen algérien représente un habitat marin d'une grande richesse écologique, abritant une diversité remarquable d'algues marines dont la

répartition, l'abondance et le développement sont étroitement liés aux facteurs environnementaux et aux fluctuations saisonnières. Parmi elles, les algues brunes (Phaeophyceae) occupent une place essentielle dans les communautés benthiques rocheuses, notamment dans les zones infralittorales à substrat dur exposées à la lumière et aux courants marins. Les inventaires récents montrent que des taxons comme *Sargassummuticum*, *Dictyota dichotoma*, *Halopteris scoparia*, *Padina pavonica* et *Cystoseira* spp., figurent parmi celles qui parsèment les côtes d'ouest en est, de Mostaganem à Annaba, en passant par Tipaza et Alger, contribuant à la diversité floristique méditerranéenne d'Algérie. (Mansouri et al. 2019). Cette variété d'algues brunes ne se contente pas d'habiter les roches : elle renferme une richesse de composés bioactifs, tels que des polyphénols antioxydants, des polysaccharides et des phytohormones, qui suscitent l'intérêt pour des applications potentielles en biostimulants, en nutraceutique ou en pharmaceutique, comme l'a révélé une étude récente sur *Cystoseira compressa* collectée le long des côtes algériennes (Rabhi, M et al (2025)).

I.2 L'alginate

I.2.1 Historique

L'alginate a été identifié au XIX^e siècle par le chimiste britannique E. C. C. Stanford, qui isole l'« algin » et dépose un brevet en 1886, lançant son exploitation industrielle (Haug, Larsen, & Smidsrød, 1974). Au début du XX^e siècle, la production se développe en Grande-Bretagne et Norvège à partir d'algues du genre *Laminaria* et *Ascophyllum*, et ses propriétés gélifiantes et épaississantes séduisent les industries textile et alimentaire (McHugh, 2003).

Dans les années 1970–1980, les recherches sur les blocs M et G clarifient les mécanismes de gélification avec les ions calcium (Grant et al., 1973). Aujourd'hui, l'alginate est un biomatériau stratégique, utilisé en ingénierie tissulaire, encapsulation cellulaire et applications high-tech, grâce à sa biocompatibilité et son origine renouvelable (Lee & Mooney, 2012)

I.2.2 Définition

L'alginate est un polysaccharide anionique naturel extrait principalement des parois cellulaires des algues brunes (Phaeophyceae). Il est constitué de deux unités d'acides uroniques : l'acide β -D-mannuronique (M) et l'acide α -L-guluronique (G), reliées par des liaisons glycosidiques β -(1 $\rightarrow$ 4) et α -(1 $\rightarrow$ 4) (**Rinaudo, 2008**).

Classé parmi les hydrocolloïdes, l'alginate se distingue par ses propriétés gélifiantes, épaississantes, stabilisantes et filmogènes. Grâce à ces caractéristiques, il trouve de nombreuses applications dans les secteurs agroalimentaire, pharmaceutique, cosmétique, biomédical et en ingénierie des matériaux (**Draget et al., 2005**).

I.2.3 Structure chimique des alginates

Les alginates sont des polysaccharides linéaires composés d'unités d'acide mannuronique (M) et d'acide guluronique (G), organisées en blocs MM, GG ou MG. La répartition de ces blocs conditionne les propriétés mécaniques des gels formés, notamment leur rigidité et leur élasticité.

Selon le modèle « egg-box », les blocs riches en G interagissent avec les ions calcium pour former un réseau tridimensionnel stable (**Grant et al., 1973**). Cette structure particulière explique l'intérêt majeur de l'alginate en biomédecine, notamment pour l'encapsulation cellulaire, la cicatrisation et la libération contrôlée de médicaments (**Lee & Mooney, 2012**).

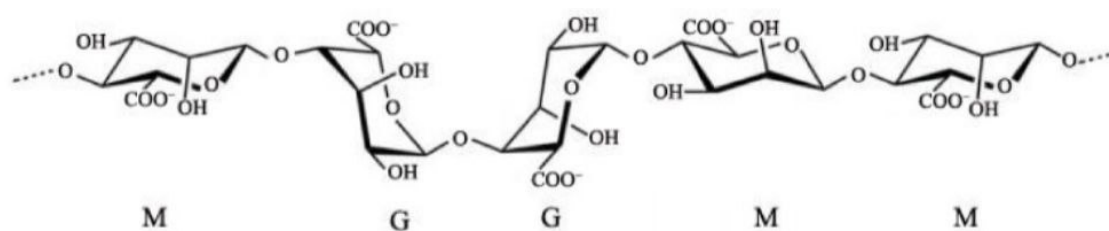


Figure 03 :Structure chimique des alginates (**Zhang, X, et al**), (2022).

I.2.4 Caractéristiques des alginates

2.4.1 Aspect physique

L'alginate, polysaccharide extrait des algues brunes (Phaeophyceae), se présente sous forme de poudre fine, granulés ou microbilles, beige à brun clair selon l'espèce et le degré de purification (**Smidsrød&Draget, 1996**). Sa texture légère et fibreuse permet une dispersion facile dans l'eau, formant des solutions visqueuses ou des gels selon le pH et la présence d'ions divalents comme le calcium.

La forme choisie influence ses propriétés fonctionnelles : la poudre est privilégiée pour ses effets gélifiants et stabilisants en industrie alimentaire et pharmaceutique, tandis que les microbilles sont utilisées pour l'encapsulation de probiotiques, vitamines ou médicament.

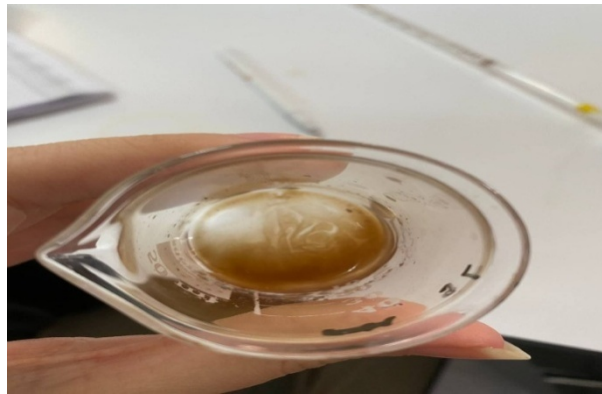


Figure 04 :Aspect physique de l'alginate.

2.4.2 Rapport M/G (Mannuronique/Guluronique)

Le rapport M/G est un paramètre déterminant des propriétés mécaniques et fonctionnelles de l'alginate. Une forte proportion de blocs guluroniques (G) favorise la formation de gels rigides et cohésifs, tandis qu'une dominance de blocs mannuroniques (M) confère des gels plus souples et élastiques. Ce rapport varie selon l'espèce d'algue, les conditions environnementales et la méthode d'extraction, ce qui permet d'adapter l'alginate aux différentes applications industrielles, notamment biomédicales et alimentaires (**Draget et al., 2005 ; Rinaudo, 2008**).

2.4.3 Masse molaire moyenne

La masse molaire moyenne des alginates varie largement selon leur origine et les méthodes d'extraction, généralement entre 20 000 et 240 000 g/mol (**McHugh, 2003**). Cette caractéristique influence directement la viscosité des solutions, la résistance mécanique et la stabilité des gels formés.

Les alginates à masse molaire élevée sont privilégiés pour des applications nécessitant des gels solides et résistants, notamment dans les matrices d'encapsulation médicamenteuse et les films comestibles en industrie alimentaire.

À l'inverse, les alginates à masse molaire faible sont adaptés aux formulations plus fluides ou aux gels légers, particulièrement recherchés dans certaines applications alimentaires.

Ainsi, la masse molaire constitue un paramètre essentiel déterminant l'adaptabilité des alginates aux exigences des secteurs industriel, pharmaceutique et alimentaire (**McHugh, 2003**).

2.4.4 Degré de polymérisation

Le degré de polymérisation (DP) indique le nombre d'unités monomériques dans la chaîne d'alginate. Dans l'industrie, il varie généralement de 100 à 1000 unités, correspondant à une masse moléculaire de 20 000 à 200 000 daltons, tandis que les sels de sodium peuvent atteindre 35 000 à 150 000 g/mol (**Rinaudo, 2008**).

Le DP influence directement :

- la viscosité des solutions,
- la stabilité et la rigidité des gels,
- la capacité d'encapsulation de substances actives.

Ainsi, la longueur des chaînes polymériques est un facteur déterminant des performances techniques et fonctionnelles des alginates dans les domaines alimentaire, pharmaceutique et cosmétique.

2.5 Propriétés physico-chimiques

2.5.1 Viscosité

La viscosité d'une solution d'alginate est principalement déterminée par :

- La taille des chaînes polymériques.
- La concentration en ions et le pH.
- La température et la force ionique.

Une viscosité élevée est un atout pour :

L'alimentation : épaississement des sauces, crèmes, confiseries et desserts lactés.

Le textile : impression de motifs ou gélification pour certaines fibres.

Le biomédical : fabrication d'hydrogels résistants pour applications thérapeutiques et pansements (**Draget et al., 2005**).

2.5.2 Solubilité

L'alginate de sodium est très soluble dans l'eau à température ambiante. La solubilité peut être modifiée par :

- La présence d'ions (Ca^{2+} , Mg^{2+}).
- Le pH du milieu.
- Les interactions avec des protéines, comme la β -lactoglobuline.

Ces interactions peuvent entraîner la formation de complexes solubles ou insolubles, modulant la texture et la stabilité des formulations alimentaires ou pharmaceutiques (**Turgeon et al., 2003**). Cette propriété est essentielle pour la conception de produits fonctionnels et de systèmes de libération contrôlée de nutriments.

2.5.3 Gélification

Les alginates sont des polysaccharides anioniques capables de former des gels tridimensionnels stables via la réaction avec les ions divalents (Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+}).

Mécanisme

Les ions Ca^{2+} sont piégés entre les blocs G, formation d'un gel solide, cohésif, stable en milieu aqueux et résistant à la chaleur. Les ions Mg^{2+} ou Na^+ ne produisent pas de gélification efficace, car ils ne forment pas de ponts intermoléculaires stables (**Grant et al., 1973; Lee & Mooney, 2012**). Cette capacité à former des gels modulables est exploitée dans l'industrie alimentaire, la pharmacie et l'ingénierie biomédicale, notamment pour la fabrication d'hydrogels, pansements, matrices de libération contrôlée et produits alimentaires innovants.

2.5.4 pH

L'alginate de sodium en solution a un pH généralement compris entre 6 et 8, légèrement neutre à faiblement alcalin (**Benbrahim, 1998**). Ce pH optimise la viscosité, la solubilité et la capacité de gélification. Des pH trop acides (<4) ou trop alcalins (>10) peuvent provoquer une hydrolyse partielle des chaînes, réduisant la formation de gels cohésifs (**Smidsrød & Draget, 1996; Rinaudo, 2008**).

I. 2.6 Application pharmaceutique et alimentaire

Les alginates sont des polysaccharides naturels largement utilisés pour leurs propriétés gélifiantes, épaississantes et stabilisantes, ainsi que leur biocompatibilité.

- **Industrie alimentaire** : amélioration de la texture et de la viscosité de desserts, sauces, yaourts ou confiseries, et encapsulation de nutriments ou probiotiques pour une libération contrôlée (**Rinaudo, 2002 ; Draget et al., 2005**).

- **Industrie pharmaceutique** : fabrication d'hydrogels pour pansements, de matrices de libération prolongée de médicaments et de capsules gastro-résistantes, grâce à la réticulation avec des ions divalents pour des gels adaptés à des applications ciblées (**Bixler&Porse, 2011 ; Lee &Mooney, 2012**).

Ainsi, les alginates combinent efficacité fonctionnelle et sécurité, démontrant leur polyvalence dans l'alimentation et la pharmacie.

I.2.7 Applications en cosmétique

Les alginates, extraits des algues brunes, forment des hydrogels doux, stables et filmogènes qui hydratent, protègent et structurent la peau (**Draget et al., 2005**).

Dans les sérums, ils stabilisent la phase aqueuse, apportent une texture légère et non grasse et permettent une diffusion contrôlée des ingrédients actifs (**Laurent et al., 1999**).

Dans les gels nettoyants, ils confèrent une viscosité délicate, éliminent les impuretés avec douceur et préservent la barrière cutanée (**Smidsrød&SkjåkBræk, 1990**).

Dans les crèmes hydratantes, ils stabilisent l'émulsion, créent une texture onctueuse et forment un film protecteur réduisant la perte d'eau trans épidermique (**Koehler et al., 2010**).

Ainsi, les alginates incarnent un héritage marin, alliant tradition et efficacité moderne dans les soins cutanés.

Partie 2

3. Généralités sur les crustacés

Les crustacés représentent un sous-embranchement majeur des arthropodes, regroupant un ensemble très diversifié d'organismes majoritairement aquatiques, tels que les crabes, les crevettes, les homards, les écrevisses et les copépodes. Ils se distinguent par la présence d'un exosquelette chitineux souvent renforcé par des dépôts calcaires, d'un corps segmenté et d'appendices articulés généralement biramés. Leur organisation corporelle comprend

classiquement une tête, un thorax et un abdomen, bien que chez de nombreuses espèces, la tête et le thorax soient fusionnés en un céphalothorax (**Brusca et al., 2016**).

Les crustacés représentent un groupe clé pour l'étude de la biodiversité aquatique et des processus écologiques. Parmi eux, les crevettes occupent une place particulière en raison de leur diversité, de leur importance écologique et de leur valeur économique. (**Martin & Davis, 2001**)



Figure 5 :Quelques espèces de crustacés (www.pecheurgourmand.com)

3.1.Les différentes espèces de crevette

Les crevettes dites « vraies » appartiennent principalement à l'infra-ordre Caridea, qui comprend de nombreuses espèces d'intérêt commercial. On y retrouve notamment la crevette grise (*Crangon crangon*) et la crevette nordique (*Pandalus borealis*), largement exploitées dans les zones tempérées et froides (**De Grave et al., 2009**).

La famille des Palaemonidae, incluse dans les Caridea, regroupe des espèces marines et dulçaquicoles. Parmi les espèces marines figure la crevette rose (*Palaemon serratus*), tandis que les espèces d'eau douce comprennent notamment le camarón géant d'eau douce (*Macrobrachium rosenbergii*), espèce largement utilisée en aquaculture tropicale (**FAO, 2022 ; Worms Editorial Board, 2023**).

Ainsi, l'appellation « crevette » englobe plusieurs lignées taxonomiques partageant des caractéristiques morphologiques similaires, mais appartenant à différents groupes au sein des décapodes, ce qui explique leur grande diversité écologique et économique (**De Grave et al., 2009**)

La description précédente conduit à la taxonomie suivante :

- Embranchement : Arthropodes ;
- Sous Embranchement : Antennates ;
- Classe : Crustacés ;
- Sous Classe : Malacostracés
- Super Ordre : Eucaridés
- Ordre : Décapodes
- Sous Ordre : Natantia
- Super Famille : Penaeoidea
- Famille : Aristoeidaes
- Genre : *Aristeus*
- Espèce : *Antennatus*

3.2. Les co-produits de la crevette

Les coproduits de crevette désignent les fractions issues de la transformation industrielle qui ne sont pas destinées à la consommation humaine directe. Ils comprennent principalement les têtes, les carapaces, les appendices ainsi que les queues, et peuvent représenter environ 40 à 60 % du poids total de l'animal, en fonction de l'espèce et du procédé de transformation utilisé (**Shahidi&Synowiecki, 1991 ; FAO, 2020**).

Ces résidus présentent un intérêt scientifique et industriel considérable en raison de leur richesse en composés à forte valeur ajoutée. La carapace constitue une source importante de chitine, biopolymère naturel pouvant être converti en chitosane, largement exploité dans les domaines pharmaceutique, biomédical, agricole et agroalimentaire (**Rinaudo, 2006**). Par ailleurs, les coproduits de crevette contiennent des protéines de haute qualité nutritionnelle, des acides aminés essentiels, des minéraux tels que le calcium et le phosphore, ainsi que des

pigments caroténoïdes, notamment l'astaxanthine, connue pour ses propriétés antioxydantes(Shahidi&Synowiecki, 1991).

Dans une perspective de valorisation, ces coproduits peuvent être transformés en farine ou en ensilage destinés à l'alimentation animale et aquacole. Ils constituent également une matière première pour l'extraction de la chitine et du chitosane, la production d'hydrolysats protéiques et l'obtention de composés bioactifs utilisés dans les secteurs nutraceutique et cosmétique. Leur exploitation s'inscrit ainsi dans une démarche d'économie circulaire visant à limiter les rejets, à optimiser l'utilisation des ressources marines et à améliorer la rentabilité et la durabilité de la filière halieutique.(Rinaudo, 2006 ; FAO, 2020).

4.Chitine et Chitosane

La chitine est un biopolymère naturel largement répandu dans la nature, considérée comme le deuxième polysaccharide le plus abondant après la cellulose.

Le chitosane, dérivé de la chitine, a été obtenu pour la première fois en 1859 par Charles Rouget, qui démontra que le traitement alcalin de la chitine entraînait une désacétylation partielle, conduisant à un polymère plus réactif et soluble en milieu acide (**Rinaudo, 2006**). Cette transformation chimique confère au chitosane des propriétés physicochimiques spécifiques, notamment sa solubilité, sa capacité filmogène et son activité biologique.

À partir de la seconde moitié du XX^e siècle, l'intérêt scientifique pour la chitine et le chitosane s'est intensifié, en raison de leurs caractéristiques telles que la biodégradabilité, la biocompatibilité et l'absence de toxicité. Ces propriétés ont favorisé leur développement dans divers domaines, notamment biomédical, pharmaceutique, agroalimentaire, agricole et environnemental (**Muzzarelli, 1977 ; Rinaudo, 2006**). Actuellement, ces biopolymères sont principalement extraits des coproduits de crustacés, notamment des carapaces de crevettes et de crabes, dans une optique de valorisation des déchets et de développement durable.

4.1. Les principales sources de la chitine

Bien que la chitine soit présente chez divers groupes biologiques, les arthropodes et en particulier les crustacés, constituent la principale source exploitée industriellement, en raison de leur grande disponibilité et de la valorisation des coproduits générés par leur transformation (Shahidi & Synowiecki, 1991 ; Rinaudo, 2006)

Tableau 5: Composition des carapaces de crevettes. (Rinaudo, 2006)

Matières sèches		
Composition %	Déchets de crevettes	
	Corps	Tête
Chitine	27	13.5-17.5
Protéines	40	29-37.5
CaCO ₃	33	25-27
Matières solubles et autres	0	32.5

4.2. Structure de la chitine

La chitine est un polymère naturel composé d'unités répétées de N-acétyl-D-glucosamine reliées par des liaisons beta. Elle possède une structure semblable à celle de la cellulose, mais avec une différence importante. La chitine a un groupement acétamido en position C2, qui remplace le groupement hydroxyle. Cela favorise la formation de nombreuses liaisons hydrogène entre les molécules et à l'intérieur des molécules, ce qui contribue à sa grande rigidité.

L'organisation régulière des chaînes linéaires de la chitine conduit à une structure semi-cristalline. Cette structure est caractérisée par la formation de microfibrilles cristallines, qui sont responsables de sa forte résistance mécanique, de sa rigidité élevée et de sa faible solubilité. La chitine se présente principalement sous trois formes différentes. Ces formes sont appelées alpha, bêta et gamma, et elles diffèrent par l'organisation des chaînes. La disposition de ces chaînes influence la compacité et les propriétés physiques du matériau.

Chez les crustacés, la chitine est associée à une matrice protéique. Cette matrice est souvent minéralisée par du carbonate de calcium, formant un matériau composite très résistant. Ce matériau composite constitue l'exosquelette des crustacés. **(Rinaudo, 2006 ; Kaur & Dhillon, 2015)**

4.3.Caractéristiques physico-chimiques de la chitine

4.3.1.Degré de N-acétylation

Le degré de N-acétylation est très important pour comprendre ce qu'est la chitine. Il s'agit du pourcentage d'unités N-acétyl-D-glucosamine dans la chaîne polymérique de la chitine. Ce paramètre a un impact direct sur la structure et les fonctions de la chitine. Lorsque le degré de N-acétylation est élevé, la chitine devient plus cristalline et plus rigide à cause des nombreuses liaisons hydrogène qui se forment. Mais si ce degré varie, cela change la solubilité de la chitine, sa réactivité chimique et la façon dont les molécules interagissent entre elles. Tout cela affecte les utilisations possibles de la chitine.**(Muzzarelli, 1977 ; Rinaudo, 2006 ; Kaur & Dhillon, 2015).**

4.3.2. Solubilité et poids moléculaire

La chitine est un polymère qui a une structure très cristalline et des liaisons hydrogène très fortes. Cela signifie que les chaînes de chitine sont très stables et compactes, ce qui rend la chitine très peu soluble dans l'eau et dans la plupart des solvants organiques courants, comme l'ont montré des études précédentes **(Muzzarelli, 1977 ; Rinaudo, 2006).**

Le poids moléculaire de la chitine est également très important, car il affecte ses propriétés mécaniques, sa viscosité et son comportement rhéologique. Les changements dans le poids moléculaire de la chitine peuvent modifier sa réactivité chimique et influencer ses performances dans différents contextes industriels et biologiques, comme l'ont démontré des recherches récentes.**(Rinaudo, 2006 ; Kaur & Dhillon, 2015)**

4.4.Source du chitosane

Le chitosane est une substance naturellement peu répandue, que l'on retrouve en faibles proportions dans les parois cellulaires de certains champignons, insectes et micro-organismes, ce qui limite son exploitation directe à grande échelle (**Muzzarelli, 1977**). Pour répondre aux besoins industriels, il est donc majoritairement obtenu à partir de la chitine, transformée par un processus de désacétylation chimique. Cette chitine provient essentiellement des carapaces de crustacés tels que les crevettes et les crabes, abondamment générées comme sous-produits des activités de pêche et d'aquaculture (**Shahidi&Synowiecki, 1991 ; Rinaudo, 2006 ; FAO, 2020**). Cette approche permet de convertir ces résidus biologiques en une matière valorisable pour la production de chitosane d'origine animale (**Brusca et al., 2016**).

4.5. Structure du chitosane

Le chitosane est un polymère linéaire issu de la désacétylation partielle de la chitine, constitué principalement d'unités de D-glucosamine liées par des liaisons $\beta(1\rightarrow4)$ et d'une fraction d'unités N-acétyl-D-glucosamine. La présence de groupements amines libres en position C2 lui confère un caractère polycationique en milieu acide, influençant sa solubilité, sa réactivité chimique et ses propriétés biologiques. Ses caractéristiques dépendent principalement du degré de désacétylation et du poids moléculaire (**Muzzarelli, 1977 ; Rinaudo, 2006 ; Kaur & Dhillon, 2015**).

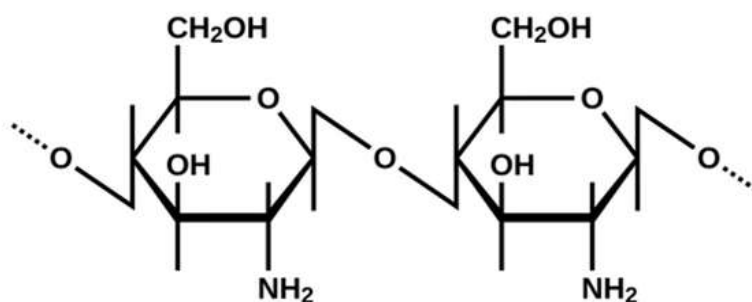


Figure 6 : Structure chimique du chitosane www.shutterstock.com

4.6. Production mondiale du chitosane

La production de chitine est principalement concentrée dans la région Asie-Pacifique, où les coproduits issus de la transformation des crustacés sont abondants et où la réglementation relative au traitement des effluents industriels demeure moins contraignante. En 2004, on recensait environ 63 producteurs majeurs de chitine à l'échelle mondiale, dont près de la moitié situés en Asie (**Le Roux, 2012**). Le Japon figurait parmi les premiers pays producteurs (**FAO, 2009**).

En 2015, la demande mondiale en chitine dépassait 60 000 tonnes, alors que la production réelle était estimée à environ 28 000 tonnes, révélant un déséquilibre important entre l'offre et la demande. Par ailleurs, le marché des dérivés de la chitine est en pleine croissance, porté par l'élargissement de leurs applications industrielles (**Kaur & Dhillon, 2015**).

Le chitosane, principal dérivé de la chitine, trouve des applications variées dans le traitement des eaux, l'industrie agroalimentaire, les cosmétiques, les bioplastiques, la biomédecine, les produits pharmaceutiques ainsi que l'agrochimie. La production mondiale de chitosane est en constante augmentation, portée par une demande croissante dans les secteurs pharmaceutique, agricole et environnemental. Ses propriétés antibactériennes et antifongiques ouvrent également de nouvelles perspectives dans le domaine du traitement des eaux et du développement d'emballages alimentaires biodégradables. Les travaux de recherche et les innovations technologiques se poursuivent afin d'optimiser les procédés de production et de purification, répondant ainsi aux exigences du marché international (**Rinaudo, 2006**).

Chitosan Market - Growth Rate by Region

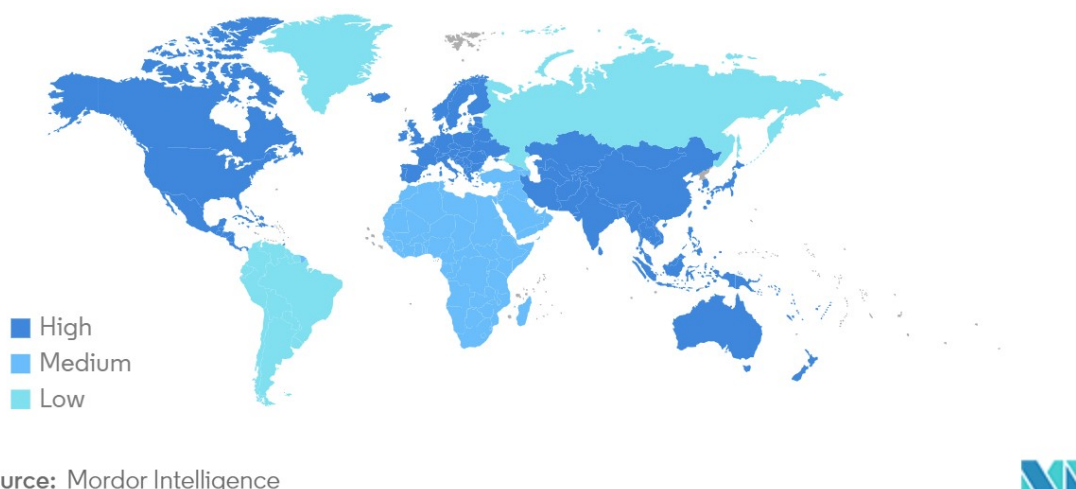


Figure7:Distribution mondiale du marché du chitosane selon les régions en 2023.(www.mordorintelligence.com)

4.7. Propriétés physico-chimiques du chitosane

Le chitosane est caractérisé physico chimiquement par le degré de désacétylation, la masse moléculaire, la viscosité et la solubilité.

4.7.1. Degré de désacétylation (DDA)

Le degré de désacétylation est le paramètre le plus déterminant des propriétés physico-chimiques du chitosane, car il influence sa solubilité, sa charge ionique, sa réactivité chimique ainsi que ses propriétés biologiques (**Muzzarelli, 1977 ; Rinaudo, 2006**). Il peut être évalué par plusieurs méthodes analytiques, notamment la spectrophotométrie UV, la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR), le dosage conductimétrique ou le dosage pH-métrique (**Rinaudo, 2006 ; Kaur & Dhillon, 2015**). Selon les conditions de désacétylation appliquées, ce degré varie généralement entre 60 % et 100 %, ce qui influence directement les caractéristiques et les domaines d'utilisation du chitosane obtenu (**Muzzarelli, 1977 ; Rinaudo, 2006**).

4.7.2. La viscosité

Contrairement à la chitine, qui présente une solubilité négligeable, le chitosane peut être étudié en solution acide, notamment dans l'acide acétique dilué, où il développe une viscosité variable. Cette viscosité dépend de plusieurs paramètres essentiels :

- **Degré de désacétylation**, car une augmentation du nombre de groupements amines libres favorise les interactions entre chaînes et accroît la viscosité (**Rinaudo, 2006**).
- **Concentration**, la viscosité augmente avec la concentration en polymère, en raison de l'accroissement des interactions et de l'enchevêtrement des chaînes macromoléculaires (**Kaur & Dhillon, 2015**).
- **Masse molaire**, un poids moléculaire élevé conduit généralement à une viscosité plus importante (**Rinaudo, 2006**).
- **pH**, la viscosité est fortement influencée par le pH du milieu. En conditions acides, les groupements amines du chitosane sont protonés, ce qui favorise la répulsion électrostatique et l'expansion des chaînes, augmentant ainsi la viscosité.

À l'inverse, lorsque le pH augmente, la déprotonation des groupements amines réduit ces interactions, entraînant une diminution de la viscosité (**Rinaudo, 2006 ; Kaur & Dhillon, 2015**).

4.7.3. Solubilité

Sous sa forme d'amine libre, le chitosane est insoluble dans l'eau, les acides concentrés, les bases ainsi que dans la majorité des solvants organiques. Cependant, il peut se dissoudre dans des solutions d'acides dilués, notamment dans certains systèmes eau-alcool. Sa solubilité est fortement influencée par le degré de désacétylation ainsi que par les conditions et la méthode employées lors du processus de désacétylation.

4.8. Propriété biologique du chitosane

Le chitosane est biocompatible, biodégradable, renouvelable, filmogène, agent hydratant, nontoxique, bonne tolérance biologique, hydrolysé par le lysozyme donc biorésorbable, cicatrisant, agent bactéricide et fongicide

- **Biocompatibilité :** Le chitosane est un copolymère normal, parfaitement compatible avec le tissu vivant.
- **Biodégradabilité :** Les enzymes chitinase et chitosanase font dégrader la chitine et le chitosane en oligopolymères facilement assimilables par l'organisme des êtres vivants.

4.9. Application de la chitine et du chitosane

4.9.1. Focus sur le domaine cosmétique

Le chitosane est largement utilisé dans le domaine cosmétique, en particulier dans la conception de sérums destinés aux soins cutanés. En raison de ses propriétés filmogènes, il est capable de former une couche protectrice à la surface de la peau, contribuant à réduire la perte en eau et à maintenir une bonne hydratation (**Kaur & Dhillon, 2015 ; Dash et al., 2011**).

De plus, sa nature cationique lui permet d'interagir efficacement avec les constituants de la peau, notamment la kératine. Cette interaction améliore l'adhérence des formulations cosmétiques et favorise une libération prolongée des principes actifs (**Aranaz et al., 2009**).

Par ailleurs, le chitosane se distingue par ses propriétés antimicrobiennes ainsi que par sa biocompatibilité élevée, ce qui en fait un ingrédient particulièrement intéressant pour les produits de soin. Dans les formulations de type sérum, il peut remplir plusieurs fonctions, telles que l'hydratation, la formation de film protecteur et le transport des substances actives, participant ainsi à la stabilité et à la performance globale du produit (**Jayakumar et al., 2010 ; Kong et al., 2010**).

CHAPITRE II

Matériel et méthodes

1. Objectif du travail

L'objectif de ce projet de fin d'études consiste à concevoir et à développer un sérum hydratant destiné au visage, formulé à partir de biopolymères d'origine naturelle, notamment l'alginate extrait d'algues brunes locales et le chitosane obtenu à partir de carapaces de crevettes.

Ce chapitre décrit l'ensemble des étapes expérimentales mises en œuvre, depuis la collecte et le prétraitement des matières premières jusqu'à la formulation et à la caractérisation du produit final. Les approches méthodologiques adoptées ont été sélectionnées dans le but d'évaluer, d'une part, la qualité des biopolymères extraits et d'autre part, les performances du sérum, notamment en termes d'hydratation, de stabilité physico-chimique et de compatibilité cutanée.

2. Récolte des algues et préparation des échantillons

2.1.Zone d'échantillonnage

L'anse de Kouali, localisée dans la wilaya de Tipaza sur le littoral centre-nord de l'Algérie, représente un site d'intérêt pour l'étude des écosystèmes marins côtiers. Plus spécifiquement, la zone de Rochet Plat, se distingue par un substrat majoritairement rocheux, offrant des conditions favorables au développement d'une flore algale diversifiée. Située aux alentours de 36° de latitude Nord et 2° de longitude Est, cette zone présente un environnement propice à l'installation de communautés benthiques bien structurées.

Ce site constitue ainsi un cadre pertinent pour l'analyse des peuplements algaux, notamment en termes de diversité spécifique, de faune benthique associée et des relations écologiques qui s'y établissent. Parmi les espèces les plus représentatives, *Cystoseira compressa*, qui occupe une place importante. Cette algue brune forme des peuplements denses sur les substrats rocheux et joue un rôle écologique majeur en offrant un habitat et une source de protection pour de nombreuses espèces marines.



Figure 8 : Rochet plat Tipaza <https://www.google.com/intl/fr/earth/>

2.2. Récolte des algues

La collecte des algues a été réalisée le 22 février 2026, avec des conditions climatiques favorables. Le temps était stable, avec une mer relativement calme, ce qui a facilité l'opération de prélèvement sur le site d'étude. Une quantité suffisante d'algues brunes a ainsi pu être récoltée.

Après la collecte, les échantillons ont été immédiatement placés dans une glacière contenant de l'eau de mer afin de préserver leur fraîcheur et d'éviter toute dégradation. Ils ont ensuite été transportés vers le laboratoire LBCM₂ de l'ENSSMAL, où ils ont été identifiés puis préparés en vue des différentes étapes expérimentales.



Figure 9:Collecte manuelle des algues sur site



Figure 10:Transport des algues dans l'eau de mer

2.3. Identification de l'espace

L'identification de *Cystoseira compressa* a été effectuée au laboratoire de biologie marine de l'ENSSMAL. Elle repose sur une analyse morphologique approfondie des structures de l'algue, incluant les parties végétatives et les organes reproducteurs.

2.4. Préparation de l'échantillon

Au laboratoire, les algues ont fait l'objet de plusieurs lavages successifs, d'abord à l'eau du robinet puis à l'eau distillée, afin d'éliminer les différentes impuretés, notamment le sable, les débris organiques et les fragments de coquillages éventuellement présents.



Figure 11: Lavage des algues.

Après le lavage, les algues ont été réparties sur des plateaux puis placées dans une étuve réglée à 40°C pendant une semaine afin d'assurer leur séchage. Un retournement manuel a été effectué quotidiennement dans le but de garantir une déshydratation homogène de l'ensemble des échantillons.



Figure 12: Séchage dans l'étuve à 40°C

Après le séchage, les algues ont été broyées à l'aide d'un broyeur de laboratoire, puis soumises à un tamisage afin d'obtenir une poudre fine et homogène, prête à être utilisée pour les étapes expérimentales suivantes.

Enfin, la poudre obtenue a été conservée dans un récipient propre et hermétiquement fermé, maintenu à température ambiante et protégé de la lumière, de la chaleur ainsi que de l'humidité, afin d'assurer sa stabilité jusqu'à son utilisation.



Figure 13: Poudre d'algues obtenue après broyage

3. Procédure d'extraction de l'alginate

3.1. Protocole d'extraction de l'alginate

Le protocole employé pour l'extraction de l'alginate a été adapté à partir des méthodes décrites par Fessih et al. (2021) et Bentmama et al. (2019).

L'extraction de l'alginate à partir d'algues brunes préalablement séchées a été réalisée en suivant les étapes décrites ci-après :

a. Prétraitement au formaldéhyde

Une masse de 30 g d'algues sèches a été immergée dans 800 ml d'une solution de formaldéhyde à 2 % pendant 24 heures à température ambiante. Cette étape permet de stabiliser la structure des algues et de réduire la présence d'impuretés. Après incubation, les algues ont été soigneusement rincées à l'eau distillée afin d'éliminer toute trace de formaldéhyde.

b. Traitement acide

Les algues ont ensuite été traitées avec 960 ml d'acide chlorhydrique (HCl) à 0,2 M pendant 24 heures. Cette étape permet d'éliminer les ions minéraux tels que le calcium et le magnésium, susceptibles de perturber le processus d'extraction. Après ce traitement, les algues ont été rincées à plusieurs reprises avec de l'eau distillée jusqu'à atteindre un pH neutre.



Figure 14:Traitement acide

c. Extraction alcaline

L'extraction de l'alginate a été réalisée en incubant les algues dans une solution de carbonate de sodium à 2 % (10 g dissous dans 500 ml d'eau distillée), à une température de 100 °C pendant 3 heures, sous agitation. Cette étape permet de solubiliser l'alginate présent dans la paroi cellulaire des algues.

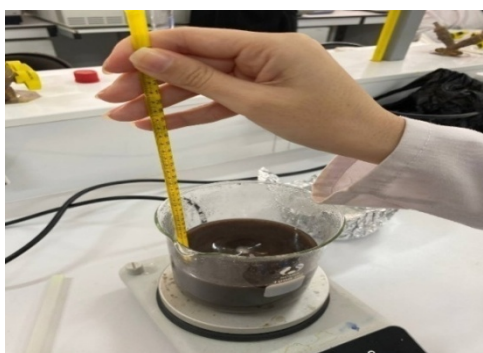


Figure 15:Extraction alcaline

d. Filtration

Après l'extraction alcaline, le mélange obtenu a été filtré à l'aide d'un tissu propre, tel qu'une gaze ou une mousseline, afin de séparer les résidus solides (algues épuisées) du filtrat contenant l'alginate sous forme soluble.

e. Précipitation de l'alginate

Trois volumes d'éthanol à 95 % ont été incorporés à la solution filtrée afin d'induire la précipitation de l'alginate. Le mélange a été maintenu au repos pour favoriser une précipitation complète. L'alginate obtenu a ensuite été séparé par décantation.



Figure 16:Précipitation de l'alginate

f. Purification

Le précipité obtenu a été rincé à l'acétone afin d'éliminer les impuretés organiques, puis séché à une température de 65 °C. Par la suite, il a été redissous dans de l'eau distillée, puis soumis à une nouvelle précipitation à l'éthanol afin d'améliorer la pureté du produit final.



Figure 17: L'alginate avant séchage.

g. Blanchiment

Après l'étape de purification de l'alginate, un blanchiment a été réalisé afin d'obtenir une couleur plus claire du produit. Cette étape a été effectuée en utilisant de l'acétone pendant une durée de 24 heures. Ensuite, l'alginate a subi trois lavages successifs à l'éthanol afin d'éliminer les impuretés résiduelles. Enfin, ce dernier a été séché à une température de 65 °C jusqu'à l'obtention d'un alginate sec et clair.

Le schéma suivant représente les différentes étapes du procédé d'extraction de l'alginate :

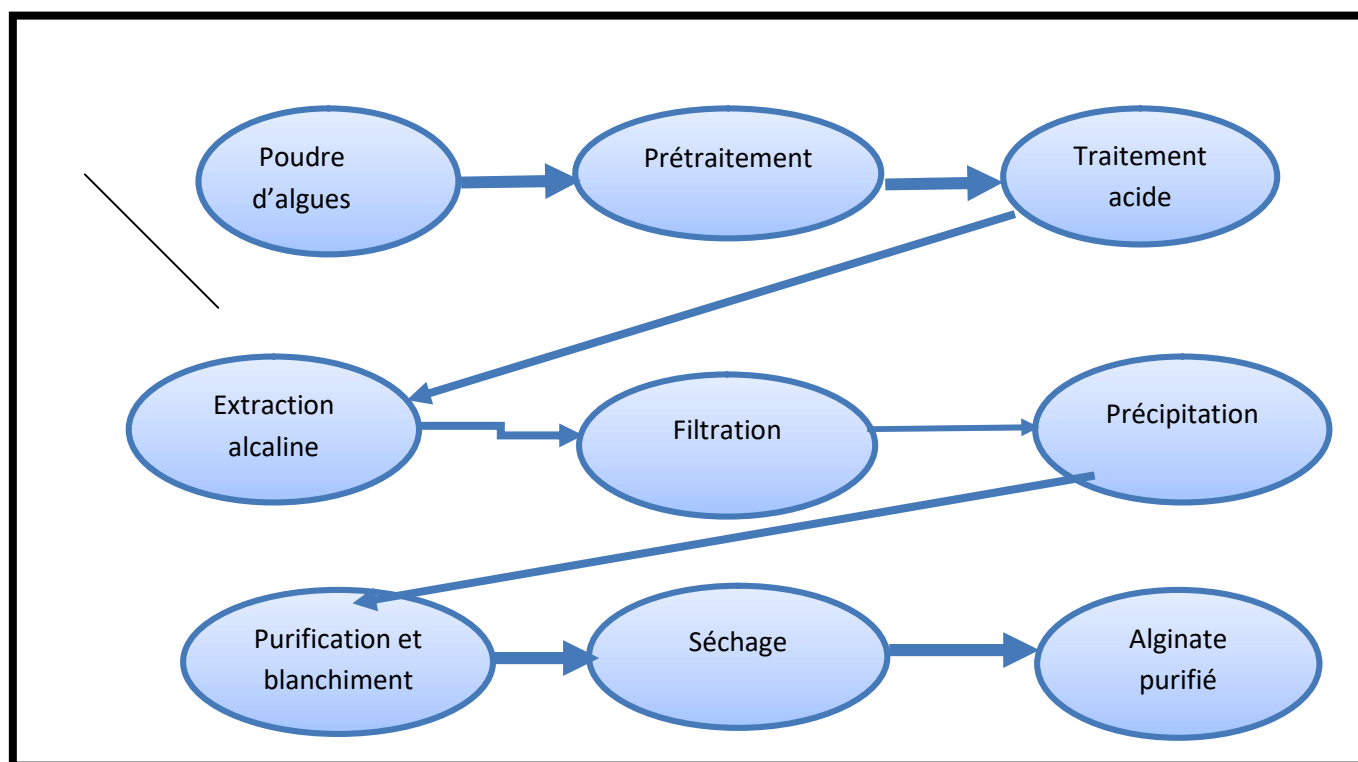


Figure 18: Schéma récapitulatif de l'extraction de l'alginate

4. Caractérisation de l'alginate extrait

4.1. Tests physico-chimiques

4.1.1. Calcul du rendement

Le rendement d'extraction de l'alginate a été déterminé en comparant la masse d'alginate sec obtenue à la masse initiale d'algues sèches utilisées. Il a été exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = (\text{masse d'alginate extrait (g)} / \text{masse d'algues sèches (g)}) \times 100$$

La masse d'alginate a été mesurée après l'achèvement de toutes les étapes, incluant l'extraction, la précipitation et le séchage. Le rendement a ensuite été estimé par rapport à la quantité initiale d'algues traitées, en s'appuyant sur des approches méthodologiques décrites dans la littérature scientifique (McHugh, 2003).

4.1.2. Test de solubilité

L'objectif de cette expérience est de déterminer la solubilité de l'alginate extrait dans l'eau ainsi que dans différents solvants organiques (éthanol, acétone, etc.).

✓ Procédure

1. Une masse de 0,1 g d'alginate a été pesée à l'aide d'une balance de précision.
2. L'échantillon a été introduit dans 10 ml d'eau distillée contenue dans un bécher.
3. Le mélange a été agité à température ambiante pendant une durée de 15 à 30 minutes, ou jusqu'à atteindre un état stable.
4. L'aspect du mélange a ensuite été observé afin de noter la formation éventuelle d'une solution homogène, d'un gel ou la présence de résidus non dissous.
5. Les mêmes étapes expérimentales ont été reproduites en utilisant d'autres solvants, notamment l'éthanol et l'acétone, dans le but de comparer les comportements de solubilité.

4.1.3. Mesure du pH

Déterminer si la solution d'alginate est acide ou basique.

✓ Procédure

1. Préparer une solution d'alginate à 1 % (1 g dans 100 ml d'eau distillée).
2. Bien agiter la solution puis la laisser reposer quelques minutes.
3. Mesurer le pH à l'aide du pH-mètre.
4. Noter la valeur obtenue.

4.1.4. Présence de polysaccharides

Vérifier la présence de polysaccharides dans l'alginate extrait.

✓ Procédure

1. Dissoudre 0,1 g de poudre d'alginate dans une petite quantité d'eau distillée.
2. Ajouter quelques gouttes de réactif de Molisch.
3. Ajouter délicatement de l'acide sulfurique le long de la paroi du bécher.
4. Mélanger légèrement si nécessaire.
5. Observer l'apparition d'une coloration violette indiquant la présence des polysaccharides.
6. Noter le résultat obtenu.

4.2. Tests structuraux / fonctionnels

4.2.1. Test de gélification

✓ Procédure

1. Dissoudre 0,05 g d'alginate dans 5 ml d'eau distillée.
2. Préparer une solution de CaCl_2 à 2 % en dissolvant 0,2 g dans 10 ml d'eau distillée.

3. À l'aide d'une pipette ou d'une seringue, déposer des gouttes de la solution d'alginate dans la solution de CaCl_2 . (Lee & Mooney, 2012)

4.2.2. Analyse FTIR (Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier)

Parmi les méthodes utilisées pour caractériser l'alginate de sodium, la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) est largement employée en raison de sa grande efficacité. Cette technique permet d'identifier les différents groupements fonctionnels présents dans un composé en se basant sur l'absorption spécifique du rayonnement infrarouge.

✓ Appareil utilisé

L'analyse a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre FTIR couvrant une plage de nombres d'onde comprise entre 4000 et 660 cm^{-1} . Cet équipement permet de détecter les bandes d'absorption caractéristiques des différentes liaisons chimiques présentes dans l'échantillon (Coates, 2000 ; Stuart, 2004)



Figure 19 : Appareil spectrophotomètre FTIR.

✓ Principe

La spectroscopie FTIR repose sur la capacité des molécules à absorber certaines fréquences du rayonnement infrarouge en fonction de leurs vibrations internes. Lorsqu'un faisceau infrarouge polychromatique traverse l'échantillon, certaines radiations sont absorbées tandis que d'autres sont transmises. Le signal obtenu est ensuite traité à l'aide d'une transformée de Fourier, ce qui permet d'obtenir un spectre représentant les pics d'absorption en fonction du

nombre d'onde. Ce spectre constitue une véritable signature chimique propre à la substance analysée (Stuart, 2004, Silverstein et al., 2014).

✓ **Mode opératoire**

Une faible quantité d'alginate extrait d'algues brunes et d'alginate commercial ont été préalablement broyée jusqu'à obtenir une poudre fine, puis mélangées avec du bromure de potassium (KBr) sous forme de poudre. Le mélange a ensuite été comprimé à l'aide d'une presse afin d'obtenir une pastille fine et transparente, adaptée à l'analyse FTIR.

La pastille obtenue a été introduite dans le compartiment du spectrophotomètre FTIR. L'acquisition du spectre a été réalisée à l'aide d'un logiciel dédié, permettant à la fois le contrôle de l'appareil, l'enregistrement des données et leur traitement par transformée de Fourier afin d'obtenir le spectre final.

4.2.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'alginate (in vitro)

➤ **Principe**

Le test d'inhibition de la dénaturation de l'albumine est utilisé pour évaluer l'activité anti-inflammatoire d'un échantillon. Sous l'effet de la chaleur, l'albumine subit une modification de sa structure, phénomène lié aux réactions inflammatoires. Un composé ayant une activité anti-inflammatoire peut limiter cette dénaturation et protéger la protéine. L'effet protecteur est déterminé par mesure de l'absorbance au spectrophotomètre à 660 nm. Une diminution de l'absorbance par rapport au témoin indique une activité anti-inflammatoire de l'échantillon.

➤ **Mode opératoire**

Le protocole expérimental utilisé pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire a été réalisé selon la méthode décrite par **Mizushima et Kobayashi (1968)**, basée sur l'inhibition de la dénaturation thermique de l'albumine sérique bovine (BSA).

Une solution de BSA à 2 % est préparée dans l'eau distillée. L'alginate est ensuite dissous afin d'obtenir une solution à 1 %. Dans des tubes à essai, 450 µl de solution de BSA sont

mélangés avec 50 µl de l'échantillon d'alginate. Un tube témoin contenant de l'eau distillée à la place de l'échantillon est préparé dans les mêmes conditions. Ensuite, 2,5 ml de tampon phosphate sont ajoutés à chaque tube.

Les mélanges sont incubés à 37 °C pendant 20 minutes puis chauffés à 57 °C pendant 30 minutes au bain-marie afin de provoquer la dénaturation de l'albumine. Après refroidissement, l'absorbance est mesurée à 660 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Les essais sont réalisés en triplicata et le pourcentage d'inhibition est calculé afin d'évaluer l'activité anti-inflammatoire de l'échantillon.

5.Procédure d'extraction du chitosane

5.1. Collecte et traitement de la matière première

5.1.1. Récolte de la matière première

La récolte de la matière première, constituée de carapaces fraîches de crevettes, a été réalisée en 2026 au niveau de la pêcherie d'Alger ainsi que dans des restaurants de poisson situés à Dellys, dans la wilaya de Boumerdes. L'identification de l'espèce a été effectuée au laboratoire d'aquaculture de l'ENSSMAL, en se basant sur les fiches d'identification de la FAO (Fischer, 1987).

5.1.2. Prétraitement de l'échantillon

a. Nettoyage

Cette étape a été réalisée dans le but d'éliminer les résidus de chair adhérent aux carapaces après la décortication, afin d'améliorer l'efficacité de la déprotéinisation. Par la suite, un rinçage a été effectué pour éliminer les particules de sable, les microorganismes ainsi que toute autre impureté présente à la surface. Le lavage a d'abord été réalisé à l'eau courante, suivi d'un rinçage final à l'eau distillée.



Figure 20: Nettoyage des crevettes avant traitement

b. Séchage

Le séchage a été réalisé dans une étuve à 60 °C pendant 48 heures, en plaçant les carapaces sur du papier cuisson pour diminuer leur teneur en eau.



Figure21 : Séchage des carapaces de Crevettes

c. Broyage et tamisage

La matière sèche a ensuite été réduite en poudre par broyage, puis passée au tamis de 200 μm afin d'obtenir une granulométrie la plus fine possible.



Figure 22: Broyage et tamisage

5.2. Protocole d'extraction du chitosane

Après le prétraitement, les carapaces de crevettes passent par une série de traitements réalisés en trois étapes principales : la déminéralisation, la déprotéinisation, puis une étape de blanchiment.

Le protocole appliqué dans cette étude est inspiré et adapté des méthodes décrites par Oduor-Odote P. et al. (2005) et Kadouche S et al. (2016), portant sur l'extraction du chitosane à partir de déchets de crevettes et d'autres ressources marines.

5.2.1. Déminéralisation

Après un prétraitement initial, les carapaces ont été plongées dans une solution aqueuse d'acide chlorhydrique (HCl 1N), en respectant un rapport solide/liquide de 1:10 (m/v). Le mélange a été maintenu sous agitation modérée pendant 6 heures à une température de 50 °C, afin d'éliminer les composés minéraux présents.

À l'issue de cette étape de déminéralisation, le mélange a été filtré. Le résidu solide obtenu a ensuite été lavé à plusieurs reprises avec de l'eau distillée jusqu'à atteindre un pH neutre, puis séché à l'étuve pendant une nuit à 50 °C.



Figure 23 :Déminéralisation des carapaces de crevettes par HCl

5.2.2.Déprotéinisation

Lors de cette étape, les carapaces de crevettes préalablement déminéralisées ont été traitées par une solution alcaline de soude (NaOH). Pour le premier échantillon, une solution de NaOH à 4 % a été utilisée, avec un rapport solide/liquide de 1:20 (m/v). Le mélange a été maintenu sous agitation sur une plaque chauffante à 100 °C pendant 6 heures.

À l'issue du traitement, une filtration sous vide a été réalisée afin de séparer la phase solide de la solution. Le résidu obtenu, correspondant à la chitine, a ensuite été lavé à l'eau distillée pour éliminer les traces de soude, puis séché à l'étuve pendant une nuit à 40 °C.

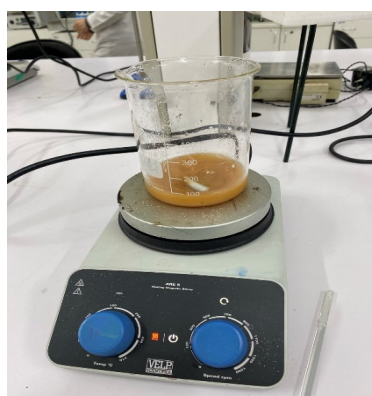


Figure24:Déprotéinisation des carapaces de crevette par NaOH

La poudre obtenue présentait une couleur blanche, indiquant une pureté satisfaisante. Par conséquent, l'étape de blanchiment n'a pas été jugée nécessaire.

5.2.3.Synthèse du chitosane par la désacétylation de la chitine

Le chitosane est obtenu par désacétylation de la chitine. Cette étape consiste en un traitement alcalin à base de NaOH, permettant la transformation des groupements acétyles de la chitine en groupements amines, ce qui conduit à la formation du chitosane. Le rendement de cette réaction dépend de plusieurs paramètres, notamment la température, la durée du traitement ainsi que le rapport entre la quantité de chitine et la solution alcaline utilisée.

L'opération a été réalisée sous hotte, avec agitation et chauffage à 100 °C. La chitine a été traitée par une solution concentrée de NaOH (12,5 M) pendant une durée de deux heures.

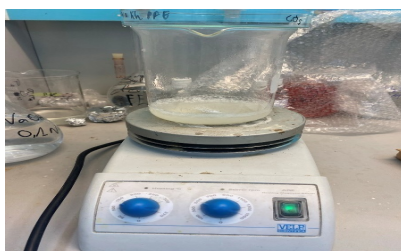


Figure 25:Désacétylation de la chitine

À l'issue du traitement, le mélange a été filtré à l'aide d'un papier filtre afin de récupérer la phase solide. L'échantillon obtenu a ensuite été séché à l'étuve à 60 °C, puis récupéré pour des analyses ultérieures.

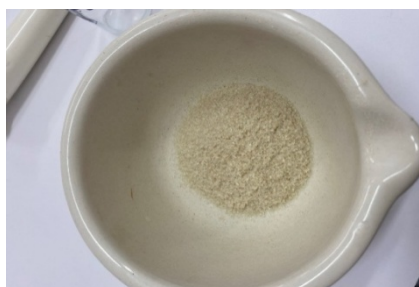


Figure 26:Obtention du chitosane.

La qualité du chitosane dépend étroitement de l'origine de la matière première utilisée (crevettes, crabes, calamars, etc.), ainsi que des conditions expérimentales appliquées lors de l'extraction de la chitine et de sa désacétylation. En effet, la nature de la source et le procédé influencent fortement les propriétés finales du polymère **(Rauch&Dornish, 2006)**. Par ailleurs, il est essentiel de maîtriser les conditions de désacétylation afin de limiter la dégradation des chaînes polysaccharidiques tout en assurant une désacétylation homogène le long du polymère, ce qui permet d'obtenir un chitosane de bonne qualité, non dégradé et soluble dans les acides dilués tels que l'acide acétique, lactique ou citrique **(Babak et al., 1999)**.

Le diagramme suivant résume l'ensemble des étapes et des méthodes utilisées pour l'obtention du chitosane :

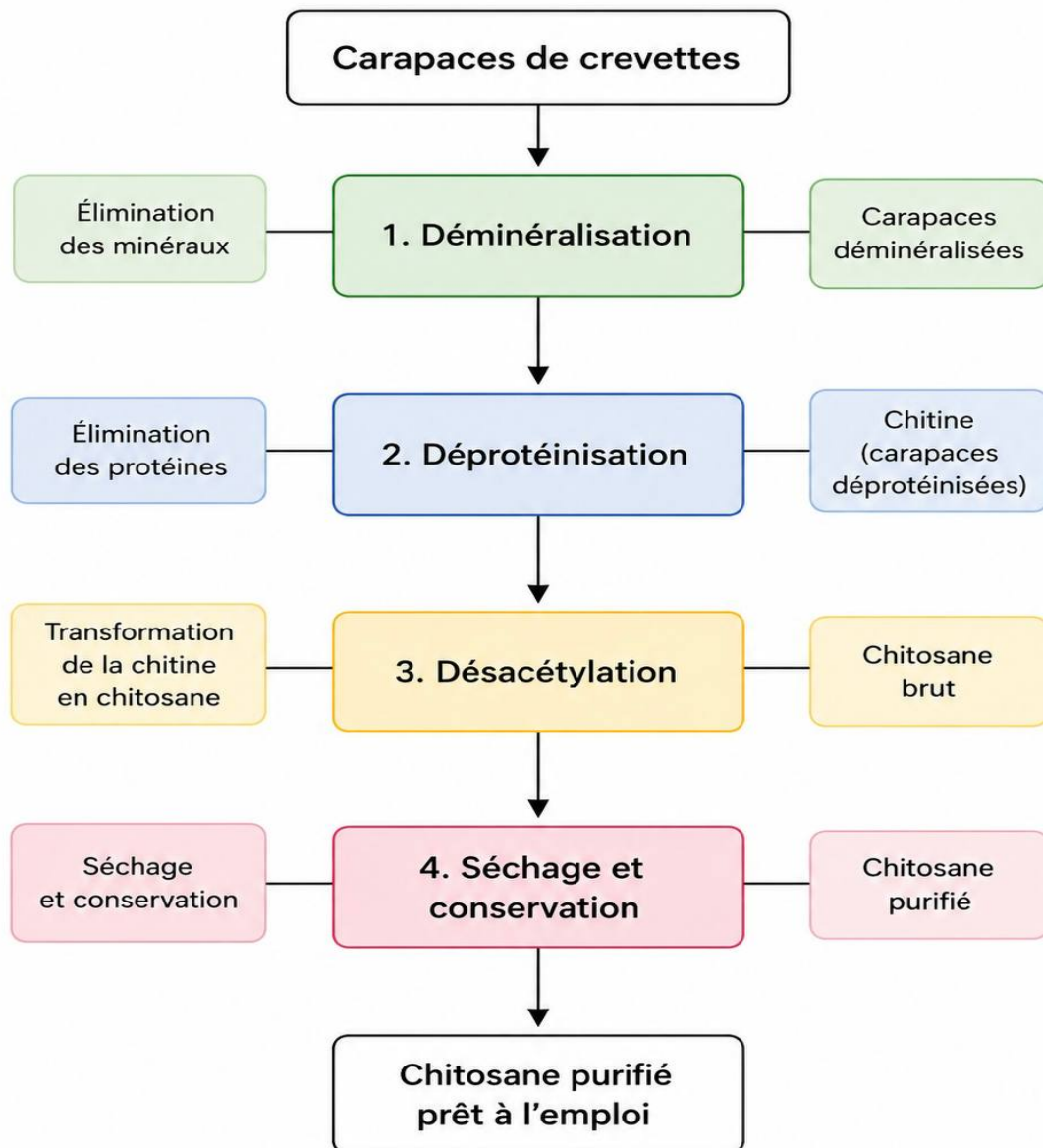


Figure27 : Schéma simplifié des étapes d'obtention du chitosane

6.Caractérisation du chitosane synthétise

6.1.Calcule du rendement

Rendement % : $\text{masse du chitosane extrait(g)} / \text{masse des carapaces de crevette sèche(g)} * 100$

6.2. Test de solubilité

Afin d'évaluer la solubilité du chitosane synthétisé dans différents solvants (eau distillée, acétone et acide acétique), 10 mg d'échantillon ont été introduits séparément dans 10 mL de chaque solvant. Les mélanges ont ensuite été maintenus sous agitation magnétique pendant 24 heures.

6.3. Test de gélification

Procédure

1. Préparer une solution de chitosane à 1 % (1 g dans 100 mL d'acide acétique à 1 %).
2. Bien agiter jusqu'à dissolution complète du chitosane.
3. Ajouter progressivement une solution basique, par exemple NaOH, goutte à goutte.
4. Observer la formation d'un gel ou d'un précipité.
5. Noter le temps de gélification et l'aspect du gel obtenu.

6.4. Détermination de la teneur en humidité

La teneur en humidité correspond à la perte de masse subie par l'échantillon après séchage.

Pour cette analyse, une capsule vide a d'abord été pesée (m_0). Une quantité d'échantillon a ensuite été introduite, puis l'ensemble a été pesé avant séchage (m_1). L'échantillon a été placé à l'étuve à 105 °C pendant 24 heures. Après séchage, la capsule contenant l'échantillon a été de nouveau pesée (m_2).

La teneur en humidité a été calculée à l'aide de la relation suivante :

$$\text{Humidité (\%)} = (m_1 - m_2) / (m_1 - m_0) \times 100$$

6.5. Mesure du pH

1. Préparer une solution de chitosane à 1 % (1 g dans 100 ml d'acide acétique à 1 %).
2. Bien agiter la solution jusqu'à dissolution complète, puis la laisser reposer quelques minutes.

3. Mesurer le pH à l'aide du pH-mètre.
4. Noter la valeur obtenue.

6.6.Caractérisation par spectroscopie FTIR

Une quantité de 1 g de chitosane a été déposée sur le cristal ATR. Le spectre infrarouge a ensuite été enregistré dans la gamme de 4000 à 600 cm⁻¹.

6.7. Détermination du degré de désacétylation du chitosane

Le degré de désacétylation du chitosane a été déterminé par dosage acido-basique. Pour cette analyse, 0,04 g de chitosane ont été pesés puis dissous dans 25 mL d'une solution d'acide chlorhydrique (HCl) à 0,1 N sous agitation jusqu'à dissolution complète. Quelques gouttes de phénolphthaléine ont ensuite été ajoutées comme indicateur coloré. La solution obtenue a été titrée par une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 0,1 N jusqu'à l'apparition d'une coloration rose stable, correspondant au point d'équivalence. Le volume de NaOH versé à l'équivalence a été relevé afin de permettre le calcul du degré de désacétylation.

Voici la formule du **degré de désacétylation (DD)** utilisée avec cette méthode de titrage :

$$\text{DD \%} = (V1 - V2) \times 0.016 / m \times 100$$

6.8. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire du chitosane a été effectuée selon la méthode de Mizushima et Kobayashi (1968), fondée sur l'inhibition de la dénaturation thermique de l'albumine sérique bovine (BSA).

➤ Mode opératoire

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire du chitosane a été réalisée selon le même protocole expérimental que celui appliqué à l'alginate, en substituant ce dernier par le chitosane.

7. Formulation du sérum

7.1.Ingrédients

La formulation du sérum comprend les composants suivants :

- Eau purifiée (qsp 450 g)
- Alginate
- Chitosane
- Acide acétique
- Glycérine
- Acide hyaluronique
- Conservateur

7.2.Étapes de fabrication du sérum

1. Dans un premier temps, les flacons destinés au conditionnement du sérum ont été soumis à une stérilisation par autoclavage a 102°C pendant 55 min . Cette étape a été réalisée afin d'éliminer toute contamination microbologique et de garantir des conditions aseptiques pour la conservation du produit final.



Figure28 : Flacons de sérum soumis à une stérilisation à l'autoclave

2. La paillasse et le matériel ont été désinfectés afin d'assurer des conditions de travail propres. Par ailleurs, un bec Bunsen a été allumé pour maintenir un environnement aseptique et réduire toute contamination lors de la préparation du sérum.

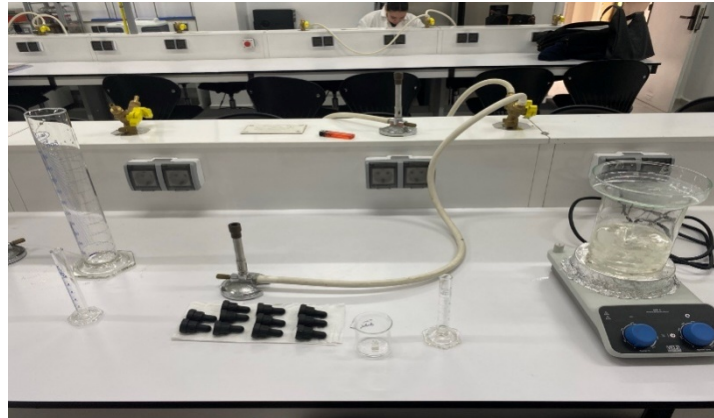


Figure29:Préparation aseptique du matériel et de la paillasse

3. La préparation du sérum a été réalisée en plusieurs étapes. Une phase à base d'alginate a été obtenue par dispersion de ce polymère dans l'eau en présence de glycérine, suivie d'une phase d'hydratation sous agitation modérée. Parallèlement, une solution de chitosane a été préparée dans un milieu légèrement acide afin d'assurer sa dissolution complète.
4. Ensuite, la phase de chitosane a été progressivement incorporée à la phase alginate sous agitation contrôlée, conduisant à la formation d'un gel homogène. L'acide hyaluronique a été ajouté ultérieurement afin d'améliorer les propriétés hydratantes du système.

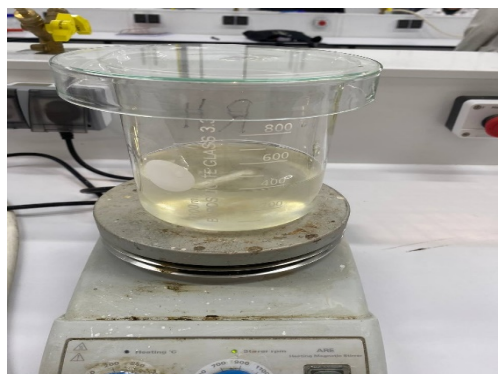


Figure30:Incorporation de la solution de chitosane dans la phase alginate

5. Enfin, les excipients restants, notamment la glycérine complémentaire et le conservateur, ont été incorporés. Le pH de la formulation a été ajusté dans une zone légèrement acide compatible avec une application cutanée.



Figure 31: La base du sérum

6. Le produit final a été homogénéisé puis conditionné dans des flacons adaptés, puis laissé au repos pendant 12 à 24 heures avant évaluation.

8. Contrôles du produit fini

8.1. Contrôle physico-chimique

8.1.1. Aspect visuel, couleur et Odeur

Une évaluation des propriétés sensorielles du sérum a été effectuée afin d'apprécier son aspect général, sa couleur et son odeur. Cette observation a été réalisée juste après la préparation, puis répétée après 24 heures de repos.

Procédure

- Le sérum a été examiné visuellement dans un récipient transparent, sous éclairage naturel, afin d'évaluer son apparence.
- La couleur du produit ainsi que la présence éventuelle d'anomalies (bulles, dépôt ou séparation de phases) ont été relevées.
- L'odeur a été appréciée de manière prudente en ouvrant le flacon, afin d'identifier son caractère (agréable, neutre ou désagréable).
- La consistance du sérum a également été observée pour juger de son homogénéité et de sa fluidité.

Cette évaluation permet d'obtenir une première indication sur la qualité globale du sérum et son acceptabilité potentielle par l'utilisateur.

8.1.2. Mesure du pH

Le pH du sérum a été mesuré afin de vérifier sa compatibilité avec une application cutanée.

Procédure

- Une quantité du sérum a été prélevée et placée dans un bécher propre.
- Le pH a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre préalablement étalonné.

- L'électrode a été immergée directement dans l'échantillon, puis la valeur du pH a été relevée après stabilisation de la lecture.

Cette mesure permet de s'assurer que le pH du sérum se situe dans une zone adaptée à la peau, garantissant ainsi une bonne tolérance cutanée.

Le pH du sérum a été ajusté de manière à se situer entre 4 et 5, une zone considérée comme optimale pour la peau. Ce niveau d'acidité est important pour préserver l'équilibre naturel de la surface cutanée et assurer le bon fonctionnement de la barrière protectrice de l'épiderme. En effet, un pH trop élevé peut perturber cet équilibre, favoriser l'apparition d'irritations et affecter la flore cutanée. À l'inverse, un pH plus acide contribue à maintenir un environnement favorable pour la peau, notamment chez les individus ayant une peau sensible ou sujette aux imperfections (**Lambers et al., 2006**).

8.1.3. Mesure de la densité

La densité du sérum a été déterminée à l'aide d'un densimètre numérique **Anton Paar**. L'échantillon a été introduit directement dans la cellule de mesure de l'appareil, puis l'analyse a été effectuée conformément aux recommandations du fabricant, à température ambiante. Les valeurs de densité ont été obtenues directement à partir de l'appareil et exprimées en **g/mL**.

8.1.4. Test de stabilité physique par centrifugation

Un échantillon de sérum est introduit dans des tubes adaptés, puis soumis à une centrifugation à **3000 tours/minute pendant 30 minutes**.

À l'issue de l'essai, les paramètres suivants sont évalués :

- Eventuelle séparation entre les phases ;
- Présence de sédiments ou dépôts ;
- Modification de la consistance ;
- Variation de l'aspect ou de la couleur ;
- Présence d'un surnageant anormal.

8.1.5. Test de stabilité dans le temps

Le produit (sérum) est conditionné dans son emballage final, puis placé dans des conditions de stockage contrôlées afin d'évaluer son comportement au cours du temps.

Les échantillons sont répartis selon différentes conditions de conservation :

- Température ambiante (20–25 °C) ;
- Température élevée (40 °C $\pm$ 2 °C) ;
- Éventuellement à basse température (4 °C).

Le suivi de la stabilité est réalisé à des intervalles déterminés :

- J1 (1 jour) ;
- J15 (15 jours) ;
- 1 mois.

Selon les exigences des normes en vigueur, une étude de stabilité peut être menée sur une durée allant jusqu'à 6 mois. Cependant, cette durée n'a pas été retenue dans le cadre de ce travail en raison des contraintes liées au projet de fin d'études.

À chaque échéance, une évaluation est effectuée en portant une attention particulière aux critères suivants :

- Homogénéité du produit (absence de séparation de phase) ;
- Présence éventuelle de sédiments ;
- Évolution de la texture ;
- Modification de la couleur ;
- Changement de l'odeur ;
- Variation du pH.

Cette étude permet également de déterminer les conditions de conservation optimales du sérum.

8.1.6. Observation au microscope optique

L'étude de la microstructure du sérum représente une étape importante dans l'évaluation de sa qualité. Elle permet notamment d'obtenir des informations sur la dispersion des constituants et sur la performance du procédé de formulation.

L'examen est réalisé à l'aide d'un microscope optique, à un grossissement adapté (environ x100), peu de temps après la préparation de l'échantillon. Des observations peuvent être répétées au cours du temps afin de suivre d'éventuelles modifications.

Les points suivants sont particulièrement analysés :

- La dimension et la distribution des particules ou gouttelettes ;
- Le degré d'homogénéité du système ;
- La présence éventuelle d'amas ou d'impuretés ;
- Les changements structuraux pouvant apparaître lors du stockage.

Cette approche permet de détecter des phénomènes d'instabilité à l'échelle microscopique, parfois non visibles à l'œil nu.

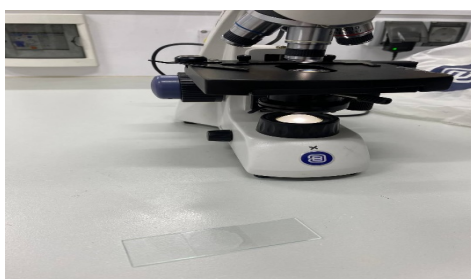


Figure 32: Observation au microscope optique

8.1.7. Test de viscosité

La détermination de la viscosité du sérum a été effectuée au niveau du **laboratoire de Swalis**, à l'aide d'un viscosimètre rotationnel de type **ViscoQC™ 100 (Anton Paar)**.

Cet équipement repose sur le principe de la résistance à l'écoulement : un mobile en rotation est immergé dans l'échantillon, et la force nécessaire pour maintenir cette rotation permet de calculer la viscosité du produit.

L'appareil affiche directement plusieurs paramètres de mesure, notamment :

- La viscosité dynamique (mPa·s) ;
- La vitesse de rotation (rpm) ;
- Le couple (%), traduisant la résistance du fluide à l'écoulement.

Au cours de l'essai, le sérum est placé dans un récipient approprié, puis soumis à une vitesse de rotation déterminée. Les mesures sont réalisées dans des conditions contrôlées afin de garantir la fiabilité des résultats.

8.1.8. Contrôle microbiologique

Dans le but d'évaluer la qualité microbiologique du sérum hydratant et de s'assurer de sa conformité aux exigences réglementaires en cosmétique, un contrôle microbiologique a été réalisé. Cette étape est essentielle pour vérifier que le produit est exempt de toute contamination susceptible d'altérer ses propriétés ou de présenter un risque pour l'utilisateur.

L'étude repose sur deux types d'analyses complémentaires. D'une part, une évaluation quantitative a été menée afin de déterminer la charge microbienne globale du sérum, incluant les bactéries aérobies mésophiles, ainsi que les levures et les moisissures. D'autre part, une analyse qualitative a été effectuée dans le but de détecter la présence éventuelle de micro-organismes pathogènes opportunistes spécifiques, dont la présence est strictement interdite dans les produits cosmétiques finis, tels que *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

L'ensemble des analyses a été réalisé en se référant aux normes ISO et aux normes algériennes (NA) en vigueur.

- ✓ ISO 21149 / NA 8287 : dénombrement de la flore mésophile aérobie totale.

- ✓ ISO 16212 / NA 8285 : dénombrement des levures et moisissures.
- ✓ ISO 22717 / NA 8292 : recherche de *Pseudomonas aeruginosa*.
- ✓ ISO 22718 / NA 8293 : recherche de *Staphylococcus aureus*.
- ✓ ISO 21150 : recherche d'*Escherichia coli*

Préparation de la suspension mère et des dilutions

La première étape de l'analyse microbiologique consiste à préparer une suspension initiale du sérum hydratant. Pour cela, une quantité déterminée du produit est prélevée dans des conditions aseptiques, puis mise en suspension dans de l'**eau physiologique stérile**. Le mélange est soigneusement homogénéisé afin d'obtenir une dispersion uniforme des micro-organismes présents.

Par la suite, une série de dilutions décimales est réalisée à partir de cette suspension initiale. Un volume précis est transféré dans des tubes contenant de l'**eau peptonée stérile**, suivie d'une homogénéisation. Cette opération est répétée successivement pour obtenir plusieurs niveaux de dilution (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , etc.).

Ces dilutions permettent d'adapter la concentration microbienne pour faciliter le dénombrement et améliorer la fiabilité des résultats obtenus.

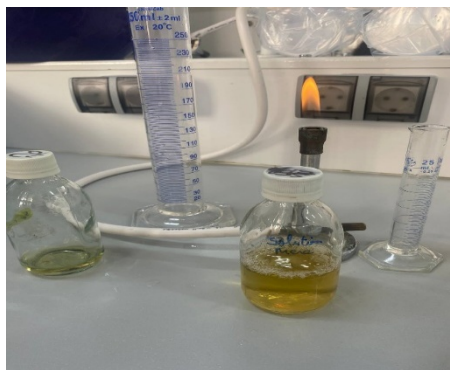


Figure 33: Préparation de la solution mère

a. Analyse de la flore mésophile aérobie Totale (FAMT)

À partir des dilutions obtenues, un volume de **0,1 ml** de chaque dilution a été prélevé à l'aide d'une micropipette stérile, puis ensemencé en surface de boîtes de Pétri contenant un milieu **TSA** solidifié (Annexe 01). L'inoculum a ensuite été étalé uniformément à l'aide d'un râteau stérile, afin d'assurer une répartition homogène des micro-organismes sur toute la surface du milieu.

Les boîtes ensemencées ont été incubées à une température de **37 °C pendant 72 heures**. À l'issue de l'incubation, les micro-organismes se développent sous forme de colonies visibles. Seules les boîtes présentant un nombre de colonies compris entre **15 et 300** ont été retenues pour le dénombrement, afin de garantir la fiabilité des résultats.

Le nombre de germes par gramme de produit a été calculé selon la formule décrite par **Guiraud et Galzy (1980)** :

$$N = \frac{\Sigma C}{V \times (n_1 + 0.1 n_2) \times d}$$

- **N** : nombre de germes par gramme de produit
- **ΣC** : somme des colonies dénombrées sur les boîtes retenues
- **V** : volume ensemencé (ml)
- **D** : facteur de dilution correspondant à la première dilution retenue
- **N₁** : nombre de boîtes comptées à la première dilution
- **N₂** : nombre de boîtes comptées à la dilution suivante

b. Levures et moisissures

Un volume de **0,1 mL** de chaque dilution décimale a été ensemencé en surface sur des boîtes de Pétri contenant une gélose **Sabouraud**, préalablement préparée et solidifiée. L'étalement a été réalisé avec précaution afin d'assurer une distribution uniforme de l'inoculum.

Les boîtes ont ensuite été incubées à une température de **25 °C** pendant une durée comprise entre **3 et 5 jours**.

Après incubation, l'examen visuel a permis de distinguer les colonies de levures, généralement lisses, crémeuses et de couleur blanche ou légèrement pigmentée, ainsi que les moisissures caractérisées par un aspect poudreux ou filamenteux.

Le dénombrement des micro-organismes a été effectué en appliquant les mêmes critères de lecture que ceux utilisés pour la flore bactérienne (**Degnon et al., 2013**)

c. Enrichissement

Dans le cadre de la recherche des micro-organismes pathogènes, une étape d'enrichissement a été réalisée. À cet effet, **10 g de sérum hydratant** ont été prélevés puis introduits dans **90 mL de bouillon TSE**(Annexe 01), contenant des agents neutralisants destinés à inhiber l'action des conservateurs.

Le mélange a été homogénéisé, puis incubé à une température de **37°C** pendant une durée comprise entre **6 et 24 heures**, afin de favoriser la multiplication des micro-organismes éventuellement présents avant leur détection spécifique.

e. Recherche de germe à pouvoir pathogènes

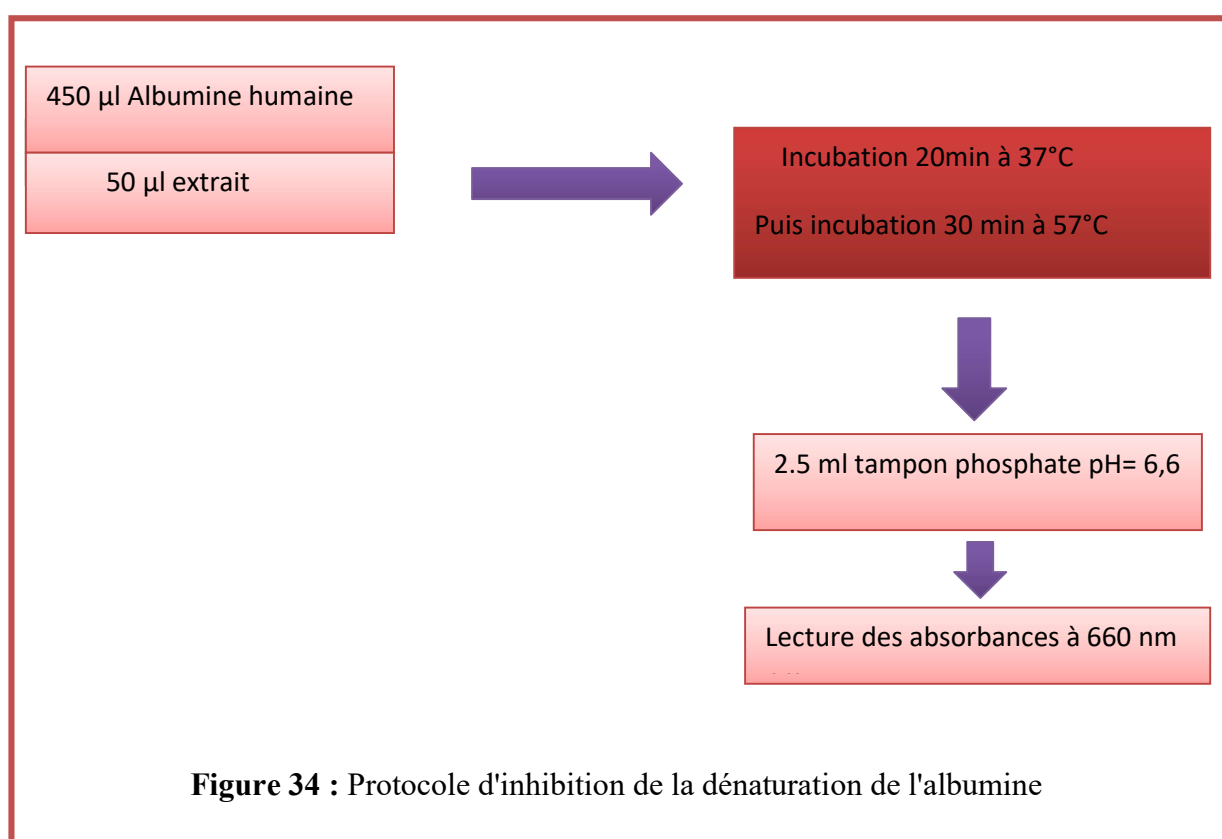
La recherche des micro-organismes pathogènes a été réalisée à l'aide de milieux de culture sélectifs adaptés à chaque germe ciblé.

- **Recherche de *Pseudomonas aeruginosa*** : une fraction de l'enrichissement a été ensemencée sur une gélose Cétrimide, puis incubée à 37°C pendant 48 heures. La présence de ce germe est indiquée par le développement de colonies présentant une coloration jaune à vert caractéristique.
- **Recherche de *Staphylococcus aureus*** : sa détection a été effectuée sur gélose Baird-Parker (Annexe 01), suivie d'une incubation de 24 à 48 heures à 37°C. Les colonies typiques apparaissent sous forme noire, généralement entourées d'un halo clair.

- **Recherche d'*Escherichia coli*** : l'ensemencement a été réalisé sur gélose VRBL (Annexe 01), avec incubation à 37°C pendant 48 heures. La présence d'*E. coli* se traduit par l'apparition de colonies de couleur rouge brique accompagnées d'un précipité biliaire.

8.1.9. Activité anti inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire du sérum a été évaluée selon la méthode de Mizushima et Kobayashi (1968), basée sur l'inhibition de la dénaturation thermique de l'albumine sérique bovine (BSA). Le protocole expérimental suivi est identique à celui décrit précédemment pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire, en adaptant uniquement l'échantillon analysé.



8.1.10. Test d'irritation cutané sur les lapins

Le test d'irritation cutanée a été mené en conformité avec la directive n°404 de l'Organisation de Coopération et de Développement Économiques (OCDE, 2015), qui fournit un protocole

de référence pour l'évaluation du potentiel irritant ou corrosif aigu des produits destinés à une application cutanée, le test a été réalisé au laboratoire de centre national de toxicologie (CNT)

Principe

Cette méthode repose sur l'application unique du produit étudié sur une zone délimitée de la peau préalablement rasée chez un lapin albinos adulte en bonne santé. Les réactions cutanées susceptibles d'apparaître, telles que l'érythème et l'œdème, sont ensuite surveillées et évaluées durant une période d'observation pouvant aller jusqu'à **14 jours**.

- **Zone d'application** : une surface cutanée d'environ **6 cm²**, préalablement rasée 24 heures avant l'application du produit.
- **Ensuite, 0,5 mL de sérum** ont été appliqués sur la zone préalablement délimitée.

Application

- Le produit a été déposé sur une compresse de gaze stérile, maintenue en place à l'aide d'un pansement semi-occlusif pendant une durée de **4 heures**.
- Les animaux ont été maintenus dans des conditions environnementales contrôlées, avec une température de **20 ± 3 °C**, une humidité relative comprise entre **50 et 60 %**, ainsi qu'un cycle lumineux de **12 heures de lumière / 12 heures d'obscurité**.

Mode opératoire

À l'issue des **4 heures d'exposition**, la compresse a été retirée et la zone traitée a été rincée délicatement à l'eau tiède afin d'éliminer tout résidu de produit. L'examen de la peau a ensuite été réalisé à différents intervalles (**1 h, 24 h, 48 h et 72 h après retrait du produit**) afin de détecter toute manifestation d'irritation cutanée, notamment l'apparition d'un érythème ou d'un œdème, selon une échelle d'évaluation standardisée.



Figure 35 : Zone de la peau rasée
Du lapin avant l'application du
sérum.



Figure 26 : Zone de la peau
Après l'application du sérum.

CHAPITRE III :

Résultats et discussion

1. Espèce récoltée

L'algue brune prélevée au niveau du site de Kouali a été identifiée comme étant *Cystoseira compressa*. Cette identification a d'abord reposé sur une observation macroscopique à l'œil nu, avant d'être confirmée par une analyse plus approfondie à l'aide d'une loupe binoculaire (**EduBlue**) et d'un microscope optique (**MicroBlue**). L'étude a porté sur les caractères morpho-anatomiques du thalle, notamment sa morphologie générale, sa texture, l'organisation des ramifications ainsi que sa teinte.

La détermination a été réalisée en s'appuyant sur des clés taxonomiques spécialisées des phéophycées méditerranéennes, en particulier celles proposées par **Rodríguez-Prieto et al. (2013)**, ainsi que par Francis **Boudouresque et collaborateurs (2012)**.



Figure 37 : Identification de l'algue récolter « *Cystoseira compressa* »

2. Calcul du rendement

À partir de 40 g d'algues brunes sèches (*Cystoseira compressa*), la quantité d'alginate obtenue après extraction a permis d'atteindre un rendement de 10 %, calculé selon la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = (\text{masse d'alginate extrait (g)} / \text{masse d'algues sèches (g)}) \times 100$$

$$\text{Rendement(\%)} = (5.5/40) \times 100 = 13.75\%$$

Le rendement obtenu s'inscrit dans l'intervalle généralement rapporté dans la littérature pour les espèces du genre *Cystoseira*, où il oscille habituellement entre 7 % et 15 %, en fonction de la période de récolte, de l'état physiologique des algues et des procédés d'extraction employés. Ce résultat témoigne d'une extraction maîtrisée, traduisant à la fois une bonne efficacité du protocole et une préservation adéquate de l'alginate au cours des différentes étapes de traitement.

3. Tests de caractérisation d'alginate

3.1. Test de solubilité

Afin de caractériser l'alginate, nous avons procédé à un test de solubilité dans différents solvants.

Tableau 06 : Résultat du test de solubilité.

Solvant	Eau distillée	Ethanol 96%	Acétone
Solubilité	+	-	-

(+) Soluble, (-) Insoluble.

Les analyses montrent que l'alginate extrait présente une excellente solubilité dans l'eau distillée, donnant naissance à une solution homogène, visqueuse et stable. Ce phénomène traduit une interaction prononcée entre les groupements polaires de l'alginate, notamment les carboxyles et les hydroxyles, et les molécules d'eau. Une telle affinité est typique des polysaccharides d'origine marine, réputés pour leur nature hydrophile et leur aptitude à former des gels aqueux (Szejtli, 2003).

En revanche, aucune dissolution n'a été observée dans des solvants organiques comme l'éthanol ou l'acétone : l'alginate y reste en suspension ou se dépose au fond du récipient. Cette insolubilité s'explique par la faible polarité de ces solvants, qui limite les interactions avec les chaînes macromoléculaires fortement hydrophiles (Dreher & Grass, 2000). Cela

confirme que les solvants peu polaires, même légèrement polarisés comme l'éthanol, ne sont pas appropriés pour dissoudre l'alginate.

Dans l'ensemble, ces observations confirment les résultats de la littérature, soulignant que l'alginate se dissout presque exclusivement dans des milieux aqueux, particulièrement à pH neutre ou légèrement alcalin, condition favorisant l'ionisation de ses groupes acides (**Mørch et al., 2006**).



Figure 38: Solubilité de l'alginate dans l'eau distillée

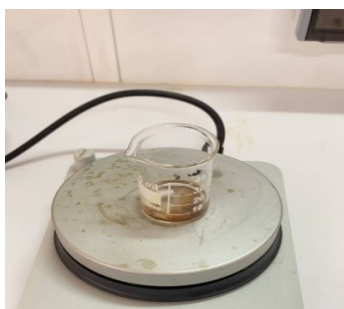


Figure 39 : Insolubilité de l'alginate dans l'acétone

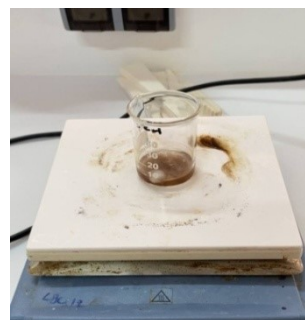


Figure 40: Insolubilité de l'alginate dans l'éthanol

3.2. Mesure du pH de l'alginate

Le pH d'une solution d'alginate extrait a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre de laboratoire, après dissolution dans l'eau distillée. La valeur obtenue était de 8.46 indiquant un caractère basique marqué.



Figure 41 : Mesure du pH de l'alginate extrait

➤ **Comparaison du pH de la solution d'alginate de sodium avec les données de la littérature.**

Le pH mesuré de la solution d'alginate de sodium est égal à 8.5, dépassant la plage habituellement rapportée pour une solution à 1 %, qui se situe entre 5,5 et 7,5. Néanmoins, cette valeur légèrement élevée n'affecte pas la stabilité de l'alginate de sodium, qui reste soluble et fonctionnel même à ce pH.

Cette élévation du pH peut s'expliquer par la présence de résidus basiques dans la poudre d'alginate utilisée, notamment issus de l'emploi de solutions de carbonate de sodium (Na_2CO_3) lors du processus d'extraction.

3.3. Test de gélification avec CaCl_2

Le test de gélification a été réalisé afin d'évaluer la capacité de l'alginate extrait à former un gel en présence d'ions calcium (Ca^{2+}), selon le principe de la réticulation ionique. Une solution aqueuse d'alginate a été mise en contact avec une solution de chlorure de calcium à 2 %, entraînant une gélification immédiate, ce qui met en évidence la capacité des chaînes d'alginate à former un réseau tridimensionnel stable par des liaisons croisées entre les groupements carboxylates (COO^-) et les ions Ca^{2+} . Ce comportement est caractéristique des polysaccharides ioniques, en particulier des alginates, qui adoptent une structure dite en « boîte à œufs » (egg-box), largement utilisée dans les domaines pharmaceutique, alimentaire et cosmétique (**Draget et al., 2006**). Ces résultats confirment ainsi que l'alginate extrait présente une excellente aptitude à la gélification, témoignant de sa qualité fonctionnelle et de son potentiel d'application dans la formulation de produits visqueux ou structurants (**George & Abraham, 2006**).

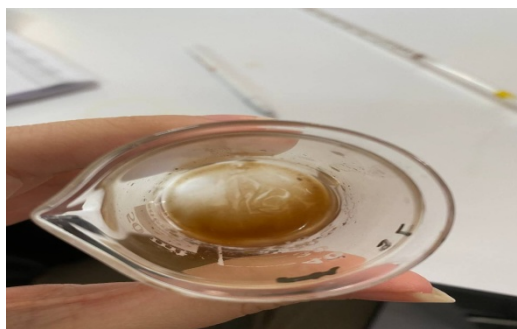


Figure 42: Formation de gel d'alginate après le goutte-à-goutte dans une solution de chlorure de calcium à 2 %.

3.4. Test de FTIR (Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier).

3.4.1. Alginate extrait d'algues brunes

Le spectre FTIR montre plusieurs bandes caractéristiques confirmant la présence de l'alginate.

- **Large bande vers $3200\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$** : cette bande correspond aux vibrations d'élongation des groupes hydroxyles (**-OH**).

Cela confirme la nature polysaccharidique de l'alginate et sa capacité d'hydratation.

- **Bande vers $1600\text{--}1650\text{ cm}^{-1}$** : elle est attribuée aux groupements carboxylates **COO⁻**. Cette bande est caractéristique de l'alginate. Elle montre :
 - la présence des fonctions acides,
 - la capacité de réticulation avec **Ca²⁺**
 - le potentiel gélifiant.
- **Zone $1000\text{--}1100\text{ cm}^{-1}$** : cette région correspond aux liaisons **C-O-C** et **C-O** des polysaccharides. Elle indique :
 - la structure glucidique.
 - la présence des unités mannuronique et guluronique.

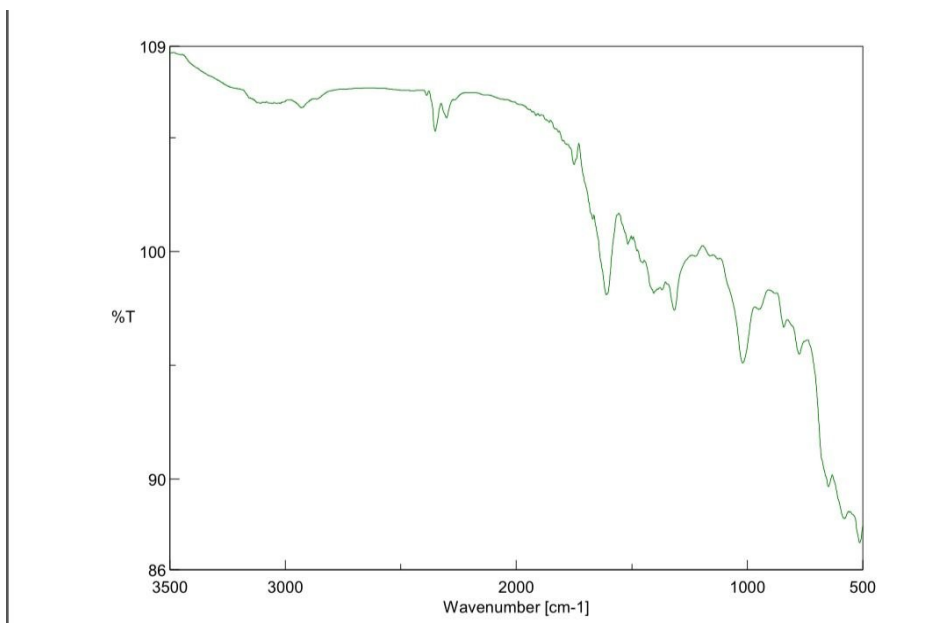


Figure 43: Spectre infra-rouge de l'alginate extrait d'algues brunes.

3.4.2. Alginate commercial

Le spectre infrarouge permet d'identifier les groupes fonctionnels caractéristiques de l'alginate commercial.

Les Bandes principales observées :

1. Large bande vers **3200–3500 cm^{-1}** : correspond aux vibrations O–H et indique la présence importante de groupes hydroxyles responsable de la forte hydrophilie de l'alginate.
2. Bande autour de **1600 cm^{-1}** : liée aux groupes carboxylates (**COO^-**) : confirme la nature acide du polymère.
3. Bande vers **1400 cm^{-1}** : étirement symétrique des groupes **COO^-** : caractéristique des sels d'alginate (alginate de sodium).
4. Région **1000–1100 cm^{-1}** : vibrations des liaisons **C–O** et **C–C** : typiques des polysaccharides.

Interprétation globale des résultats

Le spectre FTIR confirme clairement la nature polysaccharidique de l'alginate commercial analysée.

On y reconnaît :

- une forte présence de groupes hydroxyles → hydrophilie élevée.
- des groupes carboxylates → capacité de gélification.
- une structure riche en liaisons C–O → signature des polysaccharides.

Cela valide que le biopolymère étudié est bien un alginate commercial conforme à sa structure chimique attendue.

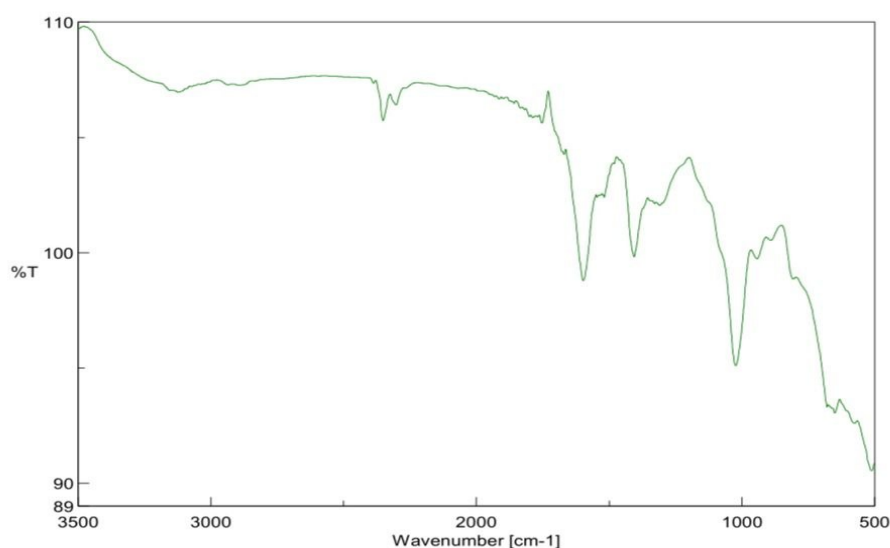


Figure44 : Spectre infra-rouge de l'alginate commercial

3.4.3. Comparaison entre l'alginate commercial et l'alginate extrait d'algues brunes

Le tableau suivant récapitule les principales différences observées entre l'alginate commercial et l'alginate extrait au cours de cette étude.

Tableau 7 : Comparaison entre l'alginate commercial et l'alginate extrait.

Région/Bande FTIR	Alginate extrait d'algues brunes	Alginate commercial	Interprétation
3200-3500cm ⁻¹	Large bande correspondant aux vibrations des groupes hydroxyles (OH-), confirme la nature polysaccharidique de l'alginate et sa capacité d'hydratation.	Large bande correspondant aux vibrations (OH-) indique la présence des groupes hydroxyles responsable de la forte hydrophilie de l'alginate.	Confirme la nature polysaccharidique et la forte hydrophilie de l'alginate.
1600-1650cm ⁻¹	Bande attribuée aux groupements carboxylates COO- montre la présence des fonctions acides ,la capacité de réticulation avec ca²⁺ et le potentiel gélifiant.	Bande autour de 1600cm⁻¹ liée aux groupe carboxylates confirme la nature acide du polymère.	Indique la nature acide du polymère et capacité de gélification.
1400cm ⁻¹	Peu marquée	Etirement symétrique des groupes (COO-),caractéristique de sel d'alginate (alginate de sodium).	Indique la présence de sel d'alginate.
1000-1100cm ⁻¹	Zone correspondant aux liaisons c-o-c et c-o,indique structure glucidique et présence des	Région 1000-1100cm⁻¹ vibrations des liaisons c-o et c-c typiques aux polysaccarides.	Confirmation de la nature polysaccaridiques.

	unités mannuroniques et guluroniques.		
Structure glucidique	présence des unités mannuroniques et guluroniques.	Structure polysaccharidique confirmé.	Confirme l'organisation chimique caractéristique des alginates
Hydrophilie	Bonne capacité d'hydratation due aux groupes hydroxyles.	Forte hydrophilie due à l'abondance des groupes hydroxyles.	Confirme une forte affinité pour l'eau.
Aspect globale du spectre	Spectre similaire à l'alginate commercial avec quelques variations d'intensité	spectre de référence conforme à la structure attendue.	Les différences sont dues aux variations naturelles liées à la source biologique.

3.5. Test des polysaccharides

Le test qualitatif des polysaccharides réalisé sur l'alginate extrait a révélé une réaction positive, mise en évidence par l'apparition d'une coloration caractéristique (violet), confirmant la présence de composés glucidiques de nature polysaccharidique. Ce résultat est cohérent avec la nature chimique de l'alginate, reconnu comme un polysaccharide anionique naturel extrait principalement des algues brunes, constitué d'unités d'acide β -D-mannuronique et d'acide α -L-guluronique. La positivité du test confirme ainsi la présence de la structure polysaccharidique attendue dans l'extrait obtenu, suggérant le succès du procédé d'extraction. Ces observations concordent avec les données de la littérature rapportant l'alginate comme un biopolymère polysaccharidique présentant une réponse positive aux tests généraux de détection des glucides (Abka-khajoui et al., 2022).



Figure 45: Apparition d'une coloration violette.

Par ailleurs, la similitude de la réaction observée entre l'alginate extrait et l'alginate commercial suggère une composition glucidique comparable, ce qui constitue un premier indicateur qualitatif de la conformité de l'extrait obtenu.

3.6. Activité anti-inflammatoire de l'alginate

L'activité anti-inflammatoire de l'alginate a été évaluée par le test d'inhibition de la dénaturation de la BSA. L'absorbance du témoin (BSA seule) était de **0,900**, tandis que l'absorbance de l'échantillon d'alginate était de **0,450**.

Le pourcentage d'inhibition a été calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{Inhibition} = \frac{\text{Abs contrle} - \text{Abs chantillon}}{\text{Abs contrle}} \times 100$$

- Absorbance du contrôle (BSA seule) = 0,900
- Absorbance de l'alginate = 0,450

$$\% \text{Inhibition} = 50,00\%$$

Interprétation

Ainsi, l'alginate a présenté un **pourcentage d'inhibition de 50,00 %**, indiquant une capacité modérée à protéger la protéine contre la dénaturation induite par la chaleur.

Afin de situer cette activité par rapport au témoin positif, une comparaison avec le diclofénac a été réalisée. Le diclofénac a montré une inhibition de **77,78 %**.

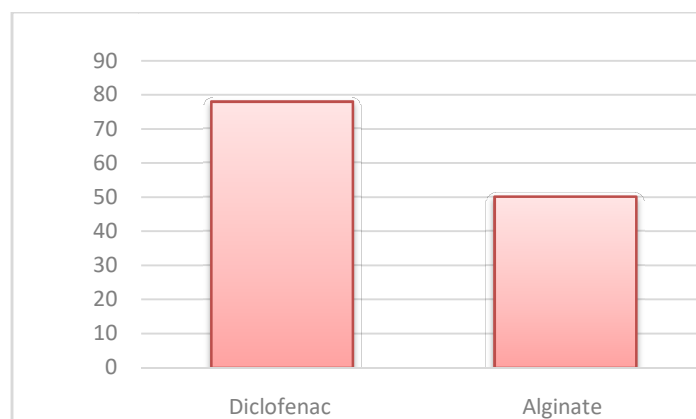


Figure46 : Comparaison de l'activité anti-inflammatoire de l'alginate et du diclofénac

Ces résultats montrent que l'alginate possède une activité anti-inflammatoire intéressante, bien qu'inférieure à celle du médicament de référence. Cette activité pourrait être attribuée à sa structure polysaccharidique ainsi qu'à sa capacité à stabiliser les protéines et à limiter leur dénaturation. Les résultats obtenus suggèrent que l'alginate peut contribuer à la réduction des phénomènes inflammatoires et pourrait être valorisé dans des formulations dermocosmétiques destinées aux peaux sensibles ou à tendance acnéique.

4. Test de caractérisation du chitosane

4.1 Calcul du rendement

A partir de 30 g des carapaces de crevette sèche la quantité du chitosane obtenue après extraction a permis d'atteindre un rendement de 23.33% calculé selon la formule suivante :

Rendement % : $\text{masse du chitosane extrait (g)} / \text{masse des carapaces de crevette sèche} * 100$

$$\text{Rendement \% : } 7 / 30 * 100 = 23.33 \%$$

L'extraction du chitosane à partir de 30 g de carapaces broyées et séchées a conduit à un rendement de 23,33 %, correspondant à une masse finale de 7g. Ce rendement est comparable aux valeurs rapportées dans plusieurs études sur les déchets de crustacés et témoigne de l'efficacité globale du protocole d'extraction utilisé. Les variations possibles du rendement peuvent être attribuées à la composition des carapaces ainsi qu'aux conditions expérimentales appliquées lors des différentes étapes du procédé.

4.2. Test de solubilité

Afin de caractériser le chitosane, nous avons procédé à un test de solubilité dans différents solvants

Tableau 8 : Comparaison de la solubilité dans l'eau distillée et l'acide acétique

Solvant	Eau distillée	Acide acétique
Solubilité	-	+

(-) : insoluble.(+) : soluble.



Figure 47: insolubilité du chitosane dans l'eau distillée.

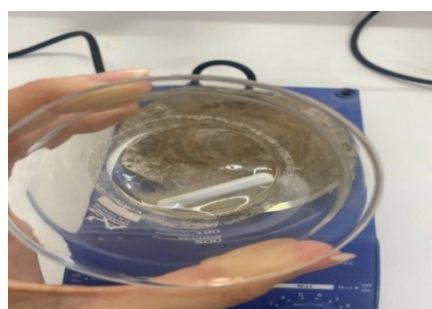


Figure 48: solubilité du chitosane dans l'acide acétique

La solubilité du chitosane dans l'acide acétique est due à la protonation des groupes amines en ions ammonium (NH_3^+), conférant une charge positive aux chaînes polymériques. Cette charge entraîne une répulsion électrostatique favorisant la dispersion du polymère(Rinaudo, 2006).

En revanche, l'insolubilité du chitosane dans l'eau distillée s'explique par l'absence de protonation de ses groupes amines (NH_2) en milieu neutre. Dans ces conditions, les chaînes macromoléculaires restent non chargées et fortement associées par des liaisons hydrogène et des interactions intermoléculaires, ce qui empêche leur dispersion dans l'eau(Rinaudo, 2006).

4.3. Détermination de la teneur en humidité

La teneur en humidité du chitosane a été déterminée afin d'évaluer la quantité d'eau contenue dans l'échantillon et de calculer sa matière sèche.

$$\text{Humidité (\%)} = (88.76 - 88.73) / (88.76 - 88.65) \times 100 = 27.27\%$$

$$\text{Calcul de la matière sèche : } 100 - 27.27 = 72.73\%$$

m0 : masse du creuset vide.

m1 : masse du creuset + chitosane avant séchage.

m2 : masse du creuset + chitosane après séchage.



Figure 49: Masse du creuset après séchage.

Le chitosane présente une teneur en humidité de 27,27 %, indiquant sa capacité à retenir l'eau grâce aux groupes hydroxyles et amines présents dans sa structure.

4.4. Détermination du degré de désacétylisation du chitosane

Le degré de désacétylation du chitosane a été déterminé afin d'évaluer la proportion de fonctions amines libres présentes dans sa structure.

$$DD(\%) = \frac{25 \times (25-5) \times 0.016}{0.04 \times 100} = 80\%$$

Un degré de désacétylation de 80 % indique que la majorité des unités N-acétyl-D-glucosamine de la chitine ont été converties en D-glucosamine. Cette forte désacétylation confère au chitosane une densité élevée de groupes amines libres, responsables de ses propriétés cationiques, de sa solubilité en milieu acide et de sa réactivité chimique accrue.

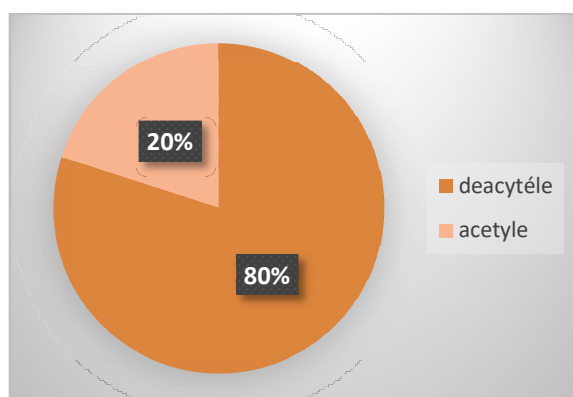


Figure52: Diagramme circulaire représentant le degré de désacétylation du chitosane obtenu.

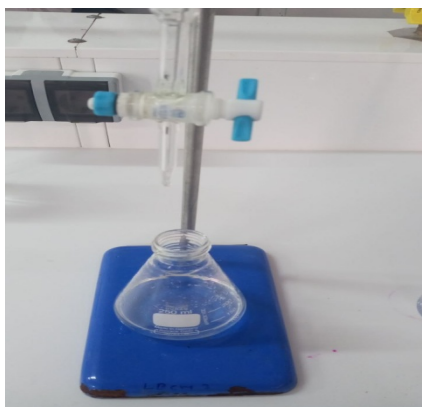


Figure 51: Titrage acido-basique

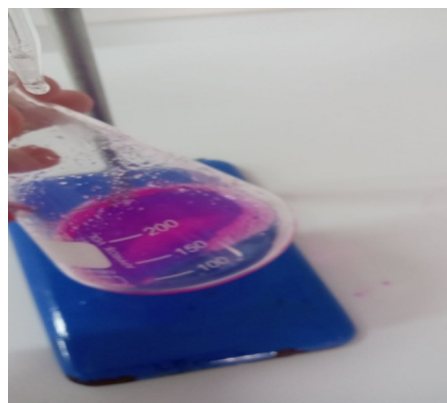


Figure 52 : Apparition d'une coloration rose à l'équivalence

Le degré de désacétylation obtenu pour le chitosane extrait dans cette étude est de 80 %, indiquant une conversion efficace de la chitine en chitosane. Cette valeur se situe dans l'intervalle généralement rapporté pour les chitosanes préparés à partir de sources marines, soit entre 70 et 95 %, selon les conditions de désacétylation appliquées (**Rinaudo, 2006 ; Younes et Rinaudo, 2015**). Un degré de désacétylation élevé reflète une proportion importante de groupements amines libres, ce qui peut améliorer certaines propriétés fonctionnelles du chitosane, notamment sa solubilité en milieu acide et sa réactivité.

4.5. Test de gélification

En milieu acide (acide acétique), le chitosane se solubilise grâce à la protonation de ses groupes amines. Cette dernière favorise les interactions inter chaînes, conduisant à la formation d'un réseau structuré tridimensionnel observé expérimentalement sous forme d'un gel.

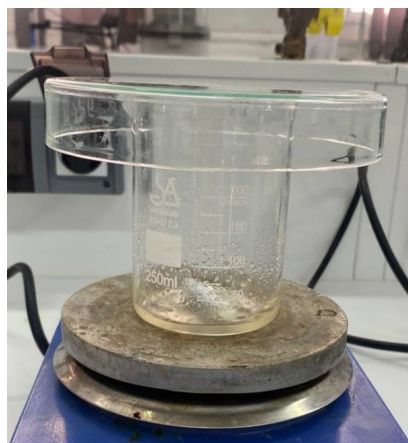


Figure 53 : Formation d'un gel dans l'acide acétique.

4.6.Mesure du pH

Le pH mesuré du chitosane est de **3,53**, révélant ainsi un milieu fortement acide. Cette acidité s'explique par la structure chimique du chitosane, qui est un polymère issu de la chitine et contenant des groupes amines (NH_2). En solution aqueuse, notamment en présence d'un acide tel que l'acide acétique utilisé pour sa dissolution, ces groupes amines captent des protons (H^+) et se transforment en ions ammonium (NH_3^+). Ce processus de protonation entraîne une augmentation de la concentration en ions H^+ dans la solution, ce qui explique la valeur acide du pH observé



Figure 54 : Mesure du pH du chitosane extrait

4.7. Test de FTIR (Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier) du chitosane

4.7.1. Chitosane extrait des carapaces des crevettes

L'analyse FTIR met en évidence les principaux groupements fonctionnels caractéristiques du chitosane et permet de confirmer sa structure polysaccharidique.

- **Domaine 3500 – 3200 cm^{-1}** : une large bande intense est observée autour de **3400 cm^{-1}** . Cette bande est associée aux vibrations d'élongation des groupements hydroxyles (**O–H**) et amines (**N–H**). Son élargissement traduit l'existence de nombreuses liaisons hydrogène au sein de la structure du chitosane.
- **Domaine 3000 – 2800 cm^{-1}** : une bande de faible intensité apparaît aux environs de **2920 cm^{-1}** . Cette absorption correspond aux vibrations d'élongation des liaisons aliphatiques **C–H** présentes dans la chaîne polymérique.
- **Domaine 1700 – 1500 cm^{-1}** : plusieurs bandes importantes sont observées dans cette région spectrale. La bande située vers **1650 cm^{-1}** est attribuée aux vibrations de la fonction amide I (**C=O**), tandis que celle observée autour de **1550 cm^{-1}** correspond aux vibrations de déformation **N–H** de l'amide II.

La présence de ces bandes confirme les fonctions amides et amines caractéristiques du chitosane.

- **Domaine 1400 – 1200 cm^{-1}** : des bandes d'intensité moyenne apparaissent dans cette zone. Elles sont principalement liées aux vibrations des groupements **C–N**, **CH₃** et **CH₂** présents dans la structure moléculaire du polymère.
- **Domaine 1150 – 1000 cm^{-1}** : une forte absorption est observée dans cette région. Cette zone correspond aux vibrations des liaisons **C–O–C** et **C–O** ainsi qu'aux liaisons glycosidiques caractéristiques des polysaccharides. Elle met en évidence l'organisation polymérique du chitosane.
- **Domaine inférieur à 1000 cm^{-1}** : des bandes supplémentaires apparaissent entre **900 et 500 cm^{-1}** . Ces signaux sont associés aux vibrations du squelette saccharidique ainsi qu'aux déformations des cycles glucosaminiques.

Le spectre FTIR du chitosane révèle la présence des principaux groupements fonctionnels caractéristiques du polymère, notamment les fonctions hydroxyles (**O–H**), amines (**N–H**), amides et les liaisons glycosidiques (**C–O–C**).

L'ensemble des bandes observées confirme la structure polysaccharidique du chitosane ainsi que la présence de fonctions actives impliquées dans ses propriétés physicochimiques et biologiques.

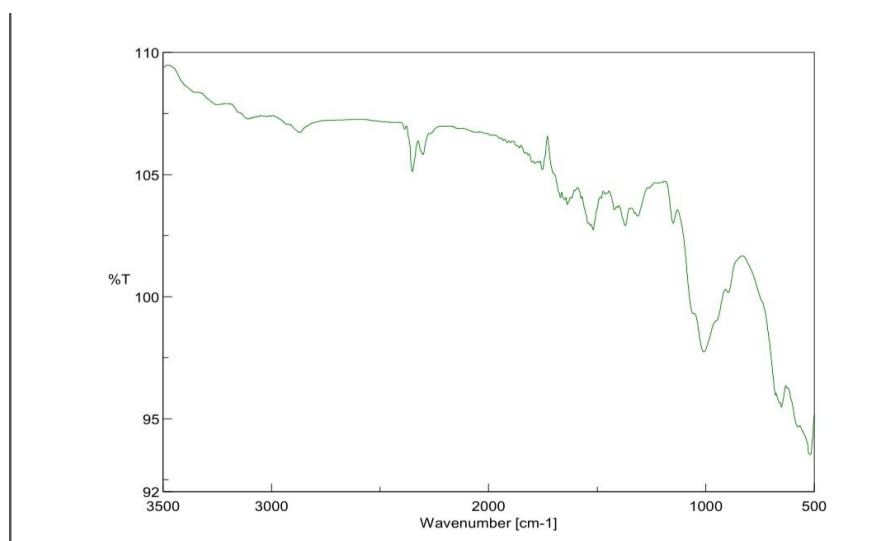


Figure 55 : Spectre infra-rouge du chitosane extrait des carapaces des crevettes.

4.7.2. Chitosane commercial

L'analyse FTIR met en évidence les principaux groupements fonctionnels caractéristiques du chitosane commercial et permet de confirmer sa structure polysaccharidique.

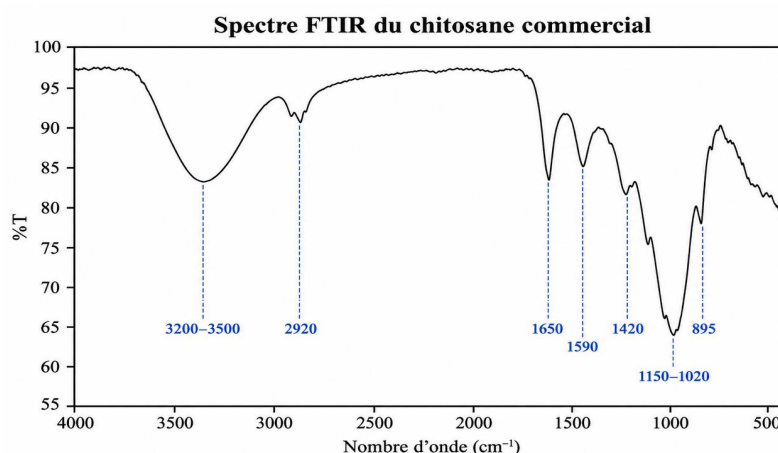


Figure 56: Spectre infra-rouge du chitosane commercial(Varma et al., 2020)

- **La région comprise entre 3200 et 3500 cm^{-1}** est liée aux vibrations d'étirement des fonctions hydroxyles (O–H) et amines (N–H).
- **La bande observée autour de 2920 cm^{-1}** est attribuée aux vibrations des liaisons C–H des chaînes aliphatiques.
- **Le domaine voisin de 1650 cm^{-1}** correspond aux vibrations du groupement carbonyle (C=O) associé à l'amide I.
- **Le pic situé vers 1590 cm^{-1}** traduit la déformation des fonctions amines primaires (NH_2).
- **La zone comprise entre 1420 et 1380 cm^{-1}** est due aux vibrations de déformation des groupes CH_2 et CH_3 .
- **L'intervalle 1150–1020 cm^{-1}** caractérise les vibrations des liaisons C–O–C et C–O du squelette polysaccharidique.
- **Le signal proche de 895 cm^{-1}** est caractéristique des liaisons β -(1→4) glycosidiques présentes dans la structure du chitosane.

4.7.3. Comparaison entre le chitosane commercial et le chitosane extrait

Le tableau suivant présente une comparaison des principales caractéristiques physicochimiques entre le chitosane commercial et le chitosane extrait à partir des carapaces de crevettes, afin d'évaluer la qualité de l'extrait obtenu.

Tableau 9 : Comparaison des observations entre le chitosane commercial et le chitosane extrait

Domaine / Bande (cm ⁻¹)	Observation comparative
3200–3500	Présente dans les deux spectres et associée aux vibrations des groupements hydroxyles et amines. Cette bande peut être plus large dans le chitosane extrait à cause de l'humidité ou des interactions intermoléculaires.
~2920	Observée dans les deux échantillons et attribuée aux liaisons C–H aliphatiques.
~1650	Correspond au groupement amide I. Cette bande est souvent plus intense dans le chitosane extrait des crevettes, ce qui peut indiquer la présence de résidus d'acétylation.
~1590	Associée aux fonctions NH ₂ et visible dans les deux spectres, confirmant la formation du chitosane après déacétylation.
1150–1020	Bandes similaires dans les deux cas, caractéristiques du squelette polysaccharidique.
~895	Présente dans les deux spectres et correspondant aux liaisons β-(1→4) glycosidiques typiques du chitosane.

La comparaison des spectres FTIR du chitosane commercial et du chitosane obtenu à partir des carapaces de crevettes met en évidence des bandes d'absorption très proches, traduisant une structure chimique similaire entre les deux matériaux. Les faibles différences observées au niveau de certaines bandes peuvent être liées à la pureté des échantillons, au taux de déacétylation ou encore à la présence de traces résiduelles provenant des étapes d'extraction. Dans l'ensemble, ces observations montrent que le procédé utilisé a permis d'obtenir avec succès du chitosane présentant des caractéristiques comparables à celles du produit commercial.

4.8. Activité anti-inflammatoire du chitosane

L'activité anti-inflammatoire du chitosane a été évaluée par le test d'inhibition de la dénaturation de la BSA. L'absorbance du témoin (BSA seule) était de **0,900**, tandis que l'absorbance de l'échantillon de chitosane était de **0,400**.

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{\text{Abs contrle} - \text{Abschantillon}}{\text{Abs contrle}} \times 100$$

- Absorbance du contrôle = 0,900
- Absorbance du chitosane = 0,400

Inhibition=55,56%

Les résultats obtenus montrent que le chitosane présente un **pourcentage d'inhibition de 55,56 %**, traduisant une capacité appréciable à limiter la dénaturation des protéines induite par la chaleur. Cette activité témoigne du potentiel anti-inflammatoire du chitosane et de son aptitude à protéger les protéines contre les altérations structurales.

Par ailleurs, le chitosane a montré une activité légèrement supérieure à celle de l'alginate, dont le pourcentage d'inhibition était de **50,00 %**. Cette différence suggère que le chitosane possède une meilleure capacité à inhiber la dénaturation protéique dans les conditions expérimentales utilisées.

Ces résultats confirment que le chitosane constitue un biopolymère marin doté d'un potentiel anti-inflammatoire intéressant, ce qui justifie son utilisation dans les formulations dermocosmétiques destinées à apaiser les inflammations cutanées et à favoriser la réparation de la peau.

5. Résultats du contrôle du produit fini

5.1 Produit fini (sérum hydratant faciale)

Ce sérum hydratant est formulé à partir de biopolymères marins naturels, notamment l'alginate extrait de l'algue brune *Cystoseira compressa* et le chitosane obtenu à partir de carapaces de crevettes. Riche en composés marins bioactifs, tels que les polysaccharides, les minéraux essentiels et les antioxydants, il contribue à hydrater intensément la peau, à renforcer sa barrière protectrice et à préserver son équilibre naturel. Les analyses réalisées sur le produit fini ont confirmé une bonne stabilité physicochimique ainsi qu'une absence totale de contamination microbiologique. De plus, les tests de tolérance cutanée n'ont révélé aucune irritation après application, attestant de sa sécurité et de sa douceur pour la peau. Ce sérum offre ainsi une action hydratante, apaisante et protectrice tout en valorisant durablement les ressources marines.



Figure 57 : Produit fini (sérum).

5.2 Contrôle physico-chimique

a. Mesure du pH

La mesure du pH a été effectuée sur le sérum. Le résultat obtenu montre que le pH de la formulation se situe dans l'intervalle 4.5-6.5 recommandé. Indiquant une bonne compatibilité avec une application cutanée.



Figure 58: Mesure du pH du produit fini (Sérum)

5.3. Test de stabilité par centrifugation

À l'issue de la centrifugation à 3000 tours/minute pendant 30 minutes, l'échantillon de sérum n'a présenté aucune modification notable de ses propriétés physiques. Aucune séparation de phases n'a été observée, le sérum étant resté homogène. De même, aucun sédiment ni dépôt n'a été détecté au fond des tubes.

La consistance de l'échantillon est demeurée inchangée après l'essai. Par ailleurs, aucune variation de l'aspect ou de la couleur n'a été constatée, et aucun surnageant anormal n'a été observé. Ces résultats témoignent de la stabilité physique du sérum dans les conditions expérimentales appliquées.

5.4. Test de stabilité de conservation

L'étude de stabilité du sérum, réalisée dans différentes conditions de conservation (température ambiante, 40 °C et 4 °C), n'a révélé aucune modification au cours de la période d'observation (J1, J15 et 1 mois).

Le produit est resté parfaitement homogène dans toutes les conditions testées, sans aucune séparation de phases. Aucun sédiment ni dépôt n'a été observé.

La texture du sérum est demeurée inchangée, conservant ses caractéristiques initiales tout au long de l'étude. De même, aucune variation de la couleur ni de l'odeur n'a été constatée.

Les mesures du pH sont restées constantes, sans variation significative, traduisant une stabilité chimique du produit.

Ainsi, ces résultats témoignent d'une excellente stabilité du sérum, quelles que soient les conditions de conservation appliquées durant la période étudiée.



Figure 59 : Stabilité du sérum a température ambiante pendant 1 mois



Figure 60 : stabilité du sérum dans un milieu froid pendant 1 mois

5.5. Observation au microscope optique

L'observation au microscope optique du sérum, réalisée à un grossissement d'environ x100, a permis d'évaluer sa microstructure immédiatement après préparation ainsi qu'au cours du suivi.

Les images microscopiques obtenues montrent un système parfaitement homogène, avec une répartition uniforme des constituants. Les particules ou gouttelettes observées présentent une taille régulière et une bonne dispersion au sein de la matrice.

Aucune présence d'amas, d'agglomérats ou d'impuretés n'a été détectée lors des différentes observations. De même, aucune modification structurale n'a été mise en évidence au cours du temps.

Ces résultats confirment la bonne qualité de la formulation et traduisent une stabilité microstructurale satisfaisante du sérum, en accord avec les observations macroscopiques réalisées précédemment.

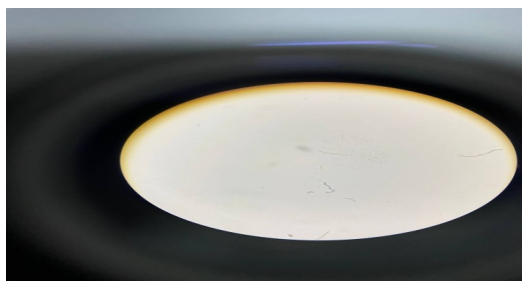


Figure 61: Observation microscopique du sérum.

5.6. Test de viscosité

La détermination de la viscosité du sérum constitue une étape essentielle, permettant d'évaluer sa texture, sa fluidité et sa stabilité.

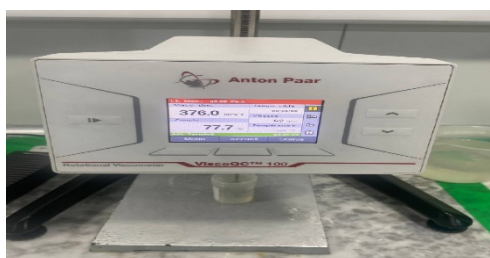


Figure 62 : Mesure de la viscosité du produit fini.

La viscosité dynamique du sérum, mesurée à l'aide du viscosimètre rotatif Anton Paar ViscoQC 100, est de 376 mPa·s à 62 rpm. Cette valeur traduit un comportement rhéologique intermédiaire, caractéristique d'un fluide légèrement structuré. Ce comportement peut être attribué à la formation d'un réseau polymérique résultant des interactions électrostatiques entre l'alginate, polymère anionique, et le chitosane, polymère cationique, conduisant à la formation d'un complexe polyélectrolytique augmentant la viscosité du système (Berger et al., 2004 ; George et Abraham, 2006). Cette viscosité modérée favorise

à la fois la stabilité de la formulation et une bonne aptitude à l'étalement, propriétés généralement observées dans les hydrogels formulés à base de biopolymères (Peppas et al., 2000).

5.7. Mesure de Densité

À l'aide du densimètre Anton Paar DMA 35, la densité du sérum mesurée est de **1,0153 g/cm³** pour une température de **24,9 °C**.



Figure 63: Mesure de la densité du sérum à l'aide du densimètre Anton Paar DMA 35

La mesure de la densité a été obtenue directement avec le densimètre sans calcul manuel. La valeur trouvée reste proche de la densité attendue pour un sérum. Le léger écart observé peut être expliqué par certains facteurs expérimentaux comme la température de mesure. Cette variation reste faible et ne signifie pas que le sérum est inutilisable.

5.8. Contrôle microbiologique

Le contrôle microbiologique du sérum constitue une étape essentielle permettant de vérifier son innocuité et l'absence de contamination microbienne.

Tableau10: Résultats des analyses microbiologiques du sérum

Résultats					Normes	
Paramètre	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	m UFC/ml	M UFC/ml
FMAT	100	ABS	ABS	ABS	≤10 ²	≤2×10 ²
UFC/ml						
Levures et Moisissures	ABS	ABS	ABS	ABS	≤10 ²	

Abs : Absence.

Micro-organismes recherchés	Résultats		Normes
N° des boîtes	1 ^{ère}	2 ^{ème}	
<i>Escherichia coli</i>	Abs	Abs	Absence dans 1 ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Abs	Abs	Absence dans 1 ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	Abs	Abs	Absence dans 1 ml

m : c'est la valeur limite qui définit le niveau de qualité souhaitable. Les résultats d'analyse inférieurs ou égaux à (m) sont considérés comme satisfaisants.

M : La valeur limite maximale absolue. Aucun échantillon ne doit dépasser cette valeur. Les résultats supérieurs à (M) indiquent une qualité inacceptable.

a. Recherche de la Flore Aérobie Mésophile Totale (FAMT)

Les résultats du dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (FAMT), obtenus sur milieu PCA après incubation à 37 °C pendant 24 à 48 heures ont été confrontés aux exigences de la norme **NA ISO 21149**, publiée au Journal Officiel de la République Algérienne. Cette norme, applicable aux produits cosmétiques destinés aux muqueuses, fixe une limite microbiologique comprise entre 100 et 200 UFC/mL (ou UFC/g).

Les observations révèlent que :

- Une croissance bactérienne inférieure à 30 UFC a été observée uniquement à la dilution 10^{-1} .
- Aucune croissance n'a été détectée pour les dilutions allant de 10^{-2} à 10^{-4} .

Ainsi, la charge microbienne mesurée demeure conforme aux exigences microbiologiques en vigueur pour ce type de produit. Cette conformité est d'autant plus essentielle que le produit est destiné à une application faciale, zone délicate où la sécurité microbiologique est primordiale.

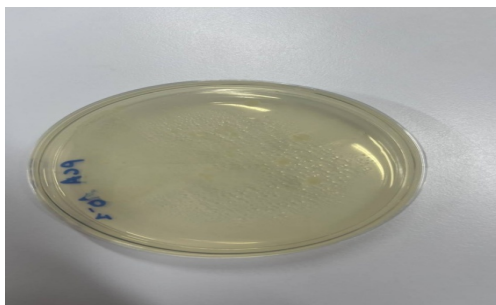


Figure 64: Flore aérobie mésophile isolée totale sur milieu PCA.

b. Recherche des levures et moisissures

Le contrôle microbiologique du sérum inclut également le dénombrement des levures et moisissures, conformément à la norme **NA ISO 16212**, publiée au Journal Officiel de la République Algérienne.

Selon cette norme, applicable aux produits cosmétiques, la limite maximale admissible est fixée à 100 UFC/ml (ou UFC/g).

Les résultats obtenus montrent que :

- Une croissance inférieure à 10 UFC a été observée uniquement à la dilution 10^{-1} .
- Aucune croissance microbienne n'a été constatée pour les dilutions comprises entre 10^{-2} et 10^{-4} .

Ces résultats traduisent une qualité microbiologique satisfaisante du produit, attestant de sa conformité aux exigences réglementaires et de son innocuité pour une utilisation sur le visage.

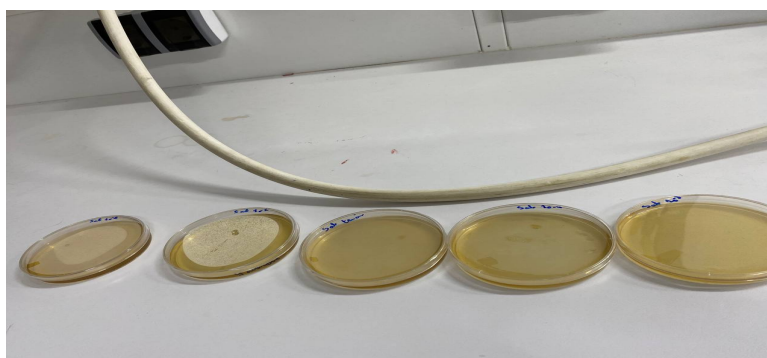


Figure 65 : Aspect de la flore fongique isolée sur milieu Sabouraud.

c. Recherche des germes pathogènes opportunistes

Recherche de *Staphylococcus aureus*

Absence de croissance de *Staphylococcus aureus* sur le milieu Baird – Parker.

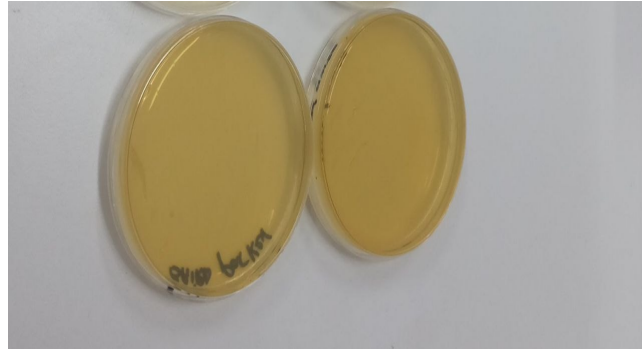


Figure 66 : Milieu Baird- Parker après incubation.

Recherche d'*Escherichia Coli*

Absence de croissance d'*Escherichiacoli* sur milieu VRBL.

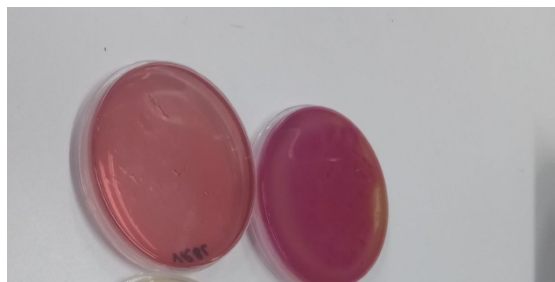


Figure 67: Milieu VRBL après incubation.

Recherche de *Pseudomonas aeruginosa*

Absence de croissance de *Pseudomonasaeruginosa* sur le milieu Cétrimide.



Figure68 : Milieu Cétrimide après incubation.

5.9. Activité anti-inflammatoire du sérum.

L'activité anti-inflammatoire du sérum a été évaluée par le test d'inhibition de la dénaturation de la BSA. L'absorbance du contrôle (BSA seule) était de **0,900**, tandis que l'absorbance du sérum était de **0,300**.

Le pourcentage d'inhibition a été calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{\text{Abs contrle} - \text{Abs chantillon}}{\text{Abs contrle}} \times 100$$

- Absorbance du contrôle = 0,900
- Absorbance du sérum = 0,300

$$\% \text{Inhibition} = 66,67\%$$

Les résultats obtenus montrent que le sérum présente un **pourcentage d'inhibition de 66,67 %**, indiquant une forte capacité à protéger les protéines contre la dénaturation thermique. Cette activité anti-inflammatoire élevée pourrait être attribuée à l'association de l'alginate et du chitosane dans la formulation, ainsi qu'à la présence d'autres composés bioactifs susceptibles d'exercer un effet protecteur sur les protéines.

Afin d'évaluer l'efficacité relative du sérum, une comparaison a été réalisée avec le diclofénac utilisé comme témoin positif. Ce dernier a présenté une inhibition de **77,78 %**.

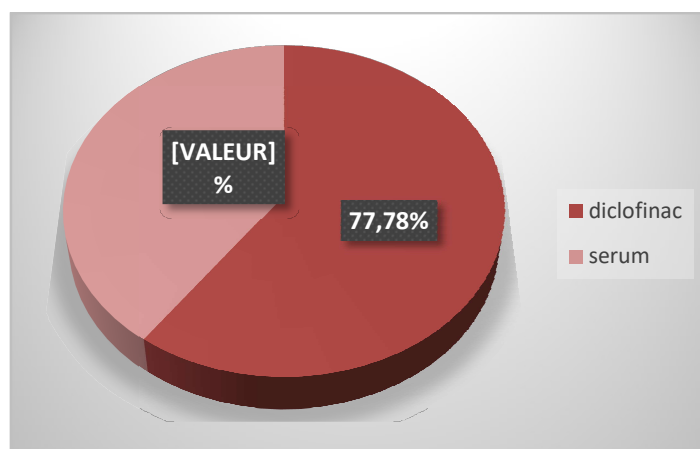


Figure68 : Pourcentage d'inhibition du sérum comparé au diclofénac

En comparant les différents échantillons testés, le sérum a présenté l'activité anti-inflammatoire la plus élevée :

Diclofénac (77,78 %) > Sérum (66,67 %) > Chitosane (55,56 %) > Alginate (50,00 %).

Ces résultats suggèrent que la combinaison de l'alginate et du chitosane au sein du sérum pourrait produire un effet complémentaire contribuant à renforcer l'activité anti-inflammatoire globale de la formulation. Cette propriété constitue un avantage important pour une application dermocosmétique destinée aux peaux sensibles ou à tendance acnéique.

5.10 Test d'irritation cutanée sur les lapins

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

Tableau 11 :Résultats du test d'irritation cutanée

Délai d'observation	Erythèmes et formation d'ulcérations	Formation d'œdème
Après 4 H	0	0
Après 24 H	0	0
Après 48 H	0	0
Après 72 H	0	0

Les examens effectués sur les trois lapins à différents temps d'observation (4 h, 24 h, 48 h et 72 h) après l'application du sérum n'ont révélé aucune réaction cutanée anormale, telle qu'un érythème, un œdème ou une lésion dermique. Les résultats obtenus au cours de cette surveillance montrent que le sérum ne présente aucun potentiel irritant ou corrosif, confirmant ainsi sa bonne tolérance cutanée.



Figure70 :Observation après 24 H (aucune irritation)



Figure71 :observation après 48H (aucune irritation)



Figure 72 :observation après 72 H(aucune irritation)

- Un sérum hydratant commercial formulé à base d'huiles essentielles a été utilisé comme témoin comparatif afin d'évaluer le potentiel irritant du produit étudié. Les observations réalisées durant les 24 premières heures après application ont révélé l'apparition d'une rougeur cutanée légère, traduisant une réaction irritative transitoire.



Figure 73: Témoins positive d'un sérum hydratant contenant des huiles essentielles

En comparant le sérum formulé dans la présente étude avec le sérum hydratant commercial contenant des huiles essentielles utilisé comme référence comparative, une meilleure tolérance cutanée a été observée pour notre formulation. En effet, alors que le sérum commercial a provoqué l'apparition d'une légère rougeur et de signes d'irritation au cours des premières 24 heures suivant l'application, notre sérum n'a induit aucune réaction cutanée notable, traduisant une bonne compatibilité avec la peau. Cette différence pourrait s'expliquer par la composition du sérum test, notamment la présence d'huiles essentielles, connues pour contenir certains composés bioactifs (terpènes, aldéhydes aromatiques, phénols) susceptibles d'induire des réactions irritatives chez les peaux sensibles ou lorsqu'ils sont utilisés à des concentrations relativement élevées. À l'inverse, l'absence de manifestations inflammatoires avec notre sérum suggère que sa formulation présente un profil de tolérance cutanée satisfaisant, ce qui constitue un critère essentiel pour une application topique répétée.

CONCLUSION

Cette étude a permis de valoriser deux ressources marines d'intérêt biologique et économique, à savoir l'alginate extrait de l'algue brune *Cystoseira compressa* et le chitosane obtenu à partir de carapaces de crevettes, en vue de leur incorporation dans une formulation cosmétique sous forme de sérum facial hydratant.

Les procédés d'extraction appliqués ont permis d'obtenir des biopolymères présentant des caractéristiques compatibles avec une utilisation cosmétique. Les différents tests de caractérisation réalisés ont confirmé la qualité des extraits obtenus. L'alginate a montré une bonne solubilité dans l'eau, une capacité de gélification en présence des ions calcium ainsi qu'une activité anti-inflammatoire élevée atteignant 90,95 %. De son côté, le chitosane s'est révélé soluble en milieu acide, capable de former un gel et a présenté une activité anti-inflammatoire de 13,55 %. Les analyses FTIR ont confirmé la présence des groupements fonctionnels caractéristiques des deux biopolymères.

La détermination du degré de désacétylation du chitosane a donné une valeur de 80 %, indiquant une conversion efficace de la chitine en chitosane et confirmant la qualité du polymère obtenu pour une utilisation dans le domaine cosmétique.

L'association de l'alginate et du chitosane a permis la formulation d'un sérum présentant des propriétés physicochimiques satisfaisantes. Les essais de stabilité ont montré l'absence de séparation de phases, de sédimentation ou de modification de l'aspect du produit, traduisant une bonne stabilité de la formulation. La viscosité mesurée (376 mPa·s) et la densité obtenue (1,0153 g/cm³) confirment également la qualité du produit développé.

Les analyses microbiologiques réalisées ont révélé l'absence de contamination par les microorganismes recherchés, notamment *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, attestant ainsi de l'innocuité microbiologique du sérum. Par ailleurs, les tests de tolérance cutanée n'ont montré aucun signe d'irritation après application, démontrant une bonne compatibilité avec la peau.

Enfin, ce travail met en évidence le potentiel de valorisation des ressources marines algériennes et des sous-produits de l'industrie halieutique dans le développement de produits cosmétiques naturels et durables. Il souligne l'intérêt de l'exploitation raisonnée des biomasses marines locales comme source de matières premières à forte valeur ajoutée, tout en contribuant à une démarche de développement durable et de réduction des déchets.

Dans la continuité de cette étude, la réalisation d'évaluations complémentaires portant sur l'efficacité cosmétique à long terme ainsi que l'optimisation des paramètres de formulation permettrait de mieux caractériser les performances de ce sérum et de consolider son potentiel de valorisation à l'échelle industrielle.

Références bibliographiques

1. **Abka-Khajouei, R., Tounsi, L., Shahabi, N., Patel, A. K., Abdelkafi, S., & Michaud, P. (2022).**Alginate-based hydrogels: principles, design and biomedical applications. *Molecules*, 27(11), 3739.
2. **Aranaz, I., Mengibar, M., Harris, R., Paños, I., Miralles, B., Acosta, N., Galed, G., & Heras, Á. (2009).** Functional characterization of chitin and chitosan. *Current Chemical Biology*, 3(2), 203–230.
3. **Babak, V. G., Skotnikova, E. A., Lukina, I. G., et al. (1999).** Adhesive properties of chitosan films and their antimicrobial activity. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 75, 193–201.
4. **Bentmama, M., Saidi, N., & Bekhiti, M. (2019).** Extraction and characterization of alginate from brown algae.
5. **Berger, J., Reist, M., Mayer, J. M., Felt, O., Peppas, N. A., & Gurny, R. (2004).** Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 57(1), 19–34.
6. **Boudouresque, C. F., Verlaque, M., & Gravez, V. (2012).** *Guide des algues des mers d'Europe*. Delachaux et Niestlé.
7. **Coates, J. (2000).** Interpretation of infrared spectra, a practical approach. In *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. Wiley.
8. **Draget, K. I., Smidsrød, O., & Skjåk-Bræk, G. (2006).** Alginates from algae. In *Biopolymers Online*. Wiley.
9. **Dreher, M. L., & Grass, M. L. (2000).** *Handbook of Dietary Fiber*. Marcel Dekker.
10. **Fessih, A., et al. (2021).** Extraction and characterization of sodium alginate from brown algae.
11. **Fischer, W. (1987).** *FAO Species Identification Sheets for Fishery Purposes*. FAO.
12. **George, M., & Abraham, T. E. (2006).** Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs. *Journal of Controlled Release*, 114(1), 1–14.
13. **Kadouche, S., et al. (2016).** Extraction and characterization of chitosan from shrimp shell waste.
14. **Kong, M., Chen, X. G., Xing, K., & Park, H. J. (2010).** Antimicrobial properties of chitosan and mode of action. *International Journal of Food Microbiology*, 144(1), 51–63.
15. **Lee, K. Y., & Mooney, D. J. (2012).** Alginate: Properties and biomedical applications. *Progress in Polymer Science*, 37(1), 106–126.
16. **Lüning, K. (1990).** *Seaweeds: Their Environment, Biogeography, and Ecophysiology*. Wiley.
17. **Martin, J. W., & Davis, G. E. (2001).** An updated classification of the recent Crustacea. *Natural History Museum of Los Angeles County*.
18. **McHugh, D. J. (2003).** *A Guide to the Seaweed Industry*. FAO Fisheries Technical Paper No. 441.
19. **Mizushima, Y., & Kobayashi, M. (1968).** Interaction of anti-inflammatory drugs with serum proteins, especially with some biologically active proteins. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 20(3), 169–173.
20. **Mørch, Y. A., Donati, I., Strand, B. L., & Skjåk-Bræk, G. (2006).** Effect of Ca^{2+} , Ba^{2+} and Sr^{2+} on alginate microbeads. *Biomacromolecules*, 7(5), 1471–1480.

21. **Muzzarelli, R. A. A. (1977).***Chitin*. Pergamon Press.
22. **Oduor-Odote, P. M., et al. (2005).** Extraction and characterization of chitin and chitosan from crustacean waste.
23. **Peppas, N. A., Bures, P., Leobandung, W., & Ichikawa, H. (2000).** Hydrogels in pharmaceutical formulations. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 50(1), 27–46.
24. **Plaza, M., Cifuentes, A., & Ibáñez, E. (2008).** In the search of new functional food ingredients from algae. *Trends in Food Science & Technology*, 19(1), 31–39.
25. **Rauch, C., & Dornish, M. (2006).** Chitosan hydrogels as biomaterials and drug delivery systems. *Advances in Polymer Science*.
26. **Rioux, L. E., Turgeon, S. L., & Beaulieu, M. (2007).** Characterization of polysaccharides extracted from brown seaweeds. *Carbohydrate Polymers*, 69(3), 530–537.
27. **Rinaudo, M. (2006).** Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science*, 31(7), 603–632.
28. **Rinaudo, M. (2008).** Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials. *Polymer International*, 57(3), 397–430.
29. **Rodríguez-Prieto, C., Ballesteros, E., Boisset, F., & Afonso-Carrillo, J. (2013).** *Guía de las macroalgas y fanerógamas marinas del Mediterráneo occidental*. Omega.
30. **Roland, J.-C., Vian, B., & Reis, D. (2008).** *Cellule végétale et biologie cellulaire*. Dunod.
31. **Rupérez, P. (2002).** Mineral content of edible marine seaweeds. *Food Chemistry*, 79(1), 23–26.
32. **Schiel, D. R., & Foster, M. S. (2006).** *The Biology and Ecology of Giant Kelp Forests*. University of California Press.
33. **Schmid, M., Guihéneuf, F., & Stengel, D. B. (2014).** Lipids from algae. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 116(11), 1578–1587.
34. **Shahidi, F., & Synowiecki, J. (1991).** Isolation and characterization of nutrients from shrimp processing discards. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39, 1527–1532.
35. **Silverstein, R. M., Webster, F. X., & Kiemle, D. J. (2014).** *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. Wiley.
36. **Steneck, R. S., Graham, M. H., Bourque, B. J., et al. (2002).** Kelp forest ecosystems: biodiversity, stability, resilience and future. *Environmental Conservation*, 29, 436–459.
37. **Stuart, B. (2004).** *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*. Wiley.
38. **Szejtli, J. (2003).** *Cyclodextrins and Their Inclusion Complexes*. Akademiai Kiado.
39. **Teas, J., Pino, S., Critchley, A., & Braverman, L. E. (2004).** Variability of iodine content in common commercially available edible seaweeds. *Thyroid*, 14(10), 836–841.
40. **Turgeon, S. L., Beaulieu, M., Schmitt, C., & Sanchez, C. (2003).** Protein–polysaccharide interactions: phase-ordering kinetics, thermodynamic and structural aspects. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 8(4–5), 401–414.
41. **Younes, I., & Rinaudo, M. (2015).** Chitin and chitosan preparation from marine sources. *Marine Drugs*, 13(3), 1133–1174.
42. **Ballesteros, E. (1990).** Structure and dynamics of Mediterranean marine vegetation. *Marine Ecology*.

43. **Bartsch, I., Wiencke, C., Bischof, K., Buchholz, C. M., Buck, B. H., Eggert, A., ... & Valentin, K. (2008).** The genus *Laminaria* sensu lato: recent insights and developments. *European Journal of Phycology*, 43(1), 1–86.
44. **Benbrahim, S. (1998).** Les alginates : extraction, propriétés et applications. (à compléter selon la source originale).
45. **Benchabane, M. (1988).** Les algues marines d'Algérie.
46. **Bixler, H. J., & Porse, H. (2011).** A decade of change in the seaweed hydrocolloids industry. *Journal of Applied Phycology*, 23, 321–335.
47. **Brusca, R. C., Moore, W., & Shuster, S. M. (2016).** *Invertebrates* (3rd ed.). Oxford University Press.
48. **Collic-Jouault, S. (1990).** Les polysaccharides sulfatés des algues brunes
49. **Dash, M., Chiellini, F., Ottenbrite, R. M., & Chiellini, E. (2011).** Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. *Progress in Polymer Science*, 36(8), 981–1014.
50. **De Grave, S., Cai, Y., & Anker, A. (2009).** Global diversity of shrimps (Crustacea: Decapoda: Caridea) in freshwater. *Hydrobiologia*, 595, 287–293.
51. **Dragnet, K. I., Smidsrød, O., & Skjåk-Bræk, G. (2005).** Alginates from algae. In A. M. Stephen, G. O. Phillips, & P. A. Williams (Eds.), *Food Polysaccharides and Their Applications* (2nd ed.). CRC Press.
52. **Distribution patterns of marine macroalgae in the North Atlantic coastal ecosystems. (2010).** *Helgoland Marine Research*, 64, 1–15.
53. **Encyclopædia Universalis. (2026).** Écologie et répartition des Phaeophyceae.
54. **Food and Agriculture Organization. (2009).** The State of World Fisheries and Aquaculture 2008. FAO.
55. **Food and Agriculture Organization. (2020).** The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. FAO.
56. **Food and Agriculture Organization. (2022).** The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. FAO.
57. **Fitton, J. H. (2011).** Therapies from fucoidan; multifunctional marine polymers. *Marine Drugs*.
58. **Gómez, I., & Huovinen, P. (2011).** Marine macroalgae and solar UV radiation. *Journal of Photochemistry and Photobiology B*.
59. **Gómez-Garreta, A., Ribera, M. A., Gallardo, T., et al. (2001).** Checklist of Mediterranean Seaweeds.
60. **Graham, L. E., Graham, J. M., & Wilcox, L. W. (2009).** *Algae* (2nd ed.). Benjamin Cummings.
61. **Grant, G. T., Morris, E. R., Rees, D. A., Smith, P. J. C., & Thom, D. (1973).** Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: The egg-box model. *FEBS Letters*, 32, 195–198.
62. **Global Ecology and Biogeography. (2022).** Global distribution patterns of marine macroalgae under climate change. *Global Ecology and Biogeography*, 31, 1654–1670.
63. **Guiry, M. D., & Guiry, G. M. (2023).** *AlgaeBase*. National University of Ireland, Galway.

64. **Haug, A., Larsen, B., & Smidsrød, O. (1974).** Uronic acid sequence in alginate from different sources. *Carbohydrate Research*.
65. **Heffernan, N., Brunton, N. P., FitzGerald, R. J., & Smyth, T. J. (2015).** Profiling of the molecular weight and structural isomer abundance of macroalgae-derived phlorotannins. *Marine Drugs*.
66. **Jayakumar, R., Prabakaran, M., Nair, S. V., & Tamura, H. (2010).** Novel chitin and chitosan nanofibers in biomedical applications. *Biotechnology Advances*
67. **Kaur, S., & Dhillon, G. S. (2015).** The versatile biopolymer chitosan: Potential sources, evaluation and applications. *Critical Reviews in Microbiology*.
68. **Koehler, J., Brandl, F. P., & Goepferich, A. M. (2010).** Hydrogels based on alginate for biomedical and cosmetic applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 76(1), 1–16.
69. **Laurent, T. C., Fraser, J. R. E., Laurent, U. B. G., & Engström-Laurent, A. (1999).** Hyaluronan in biology and medicine. *FASEB Journal*, 13(15), 2397–2404..
70. **Le Roux, C. (2012).** La chitine et le chitosane : production, propriétés et applications industrielles. Éditions Techniques de l'Ingénieur, Paris.
71. **Mansouri, K., Ould Ahmed, N., & Seridi, H. (2019).** Inventaire et diversité des macroalgues marines du littoral algérien. *Revue d'Écologie (Terre et Vie)*, 74, 45–58.
72. **Payri, C. E. (2021).** Seaweeds of the World: Brown Algae (Phaeophyceae). UNESCO–IOC Marine Biodiversity Series.
73. **Rabhi, M., et al. (2025).** Bioactive compounds and antioxidant potential of *Cystoseira compressa* collected from the Algerian coast. *Journal of Applied Phycology*.
74. **Rinaudo, M. (2002).** Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science*.
75. **Shibata, T., Fujimoto, K., Nagayama, K., Yamaguchi, K., & Nakamura, T. (2008).** Inhibitory activity of brown algal phlorotannins against hyaluronidase. *International Journal of Food Science & Technology*.
76. **Smidsrød, O., & Draget, K. I. (1996).** Chemistry and physical properties of alginates. *Carbohydrate Europe*.
77. **Smidsrød, O., & Skjåk-Bræk, G. (1990).** Alginate as immobilization matrix for cells. *Trends in Biotechnology*.
78. **Stiger-Pouvreau, V., & Thouzeau, G. (2015).** (Référence à compléter selon la publication originale.)
79. **Varma, R. S., Vasudevan, S., & al. (2020).** Extraction, characterization, and antimicrobial activity of chitosan from horse mussel (*Modiolus modiolus*). *ACS Omega*, 5(32), 20224–20230. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c01903>
80. **WoRMS Editorial Board. (2023).** World Register of Marine Species.
81. www.pecheurgourmand.com .Pêcheur Gourmand. (s.d.). Espèces de crevettes. Consulté sur le site officiel.
82. **Zhang, X., Wang, X., Fan, W., Liu, Y., Wang, Q., & Weng, L. (2022).** Structure, properties, and biomedical applications of alginates.

Annexes

Annexes 01

Tableau 01 :Compositions des principaux milieux de culture utilisés

Milieu de culture	Composition pour 1 L de milieu	pH (25 °C)	Application microbiologique
Gélose TSA (Tryptic Soy Agar)	Tryptone (15 g), peptone de soja (5 g), chlorure de sodium (5 g), agar (15 g)	7,3 ± 0,2	Milieu nutritif non sélectif destiné à la culture des bactéries aérobies non exigeantes
Gélose Sabouraud supplémentée au chloramphénicol	Peptone de caséine (5 g), peptone de viande (5 g), glucose (40 g), chloramphénicol (0,5 g), agar (15 g)	5,6 ± 0,2	Utilisé pour l'isolement et la croissance des levures et moisissures, avec inhibition des bactéries
Gélose Cétrimide	Peptone de gélatine (20 g), glycérol (10 mL), cétrimide (0,3 g), chlorure de magnésium (1,4 g), sulfate de potassium (10 g), agar (13,6 g)	7,2 ± 0,2	Milieu sélectif pour la détection et l'isolement de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Gélose Baird-Parker	Peptone de caséine (10 g), extrait de viande (5 g), extrait de levure (1 g), chlorure de lithium (5 g), glycine (12 g), pyruvate de sodium (10 g), agar (20,5 g)	—	Milieu spécifique employé pour l'identification de <i>Staphylococcus aureus</i>
Gélose VRBL	Peptone (7 g), chlorure de sodium (5 g), extrait de levure (3 g), rouge neutre (0,03 g), sels biliaries n°3 (1,5 g), cristal violet (0,002 g), lactose (10 g), agar (15 g)	7,4 ± 0,2	Milieu sélectif pour l'isolement des entérobactéries fermentant le lactose
Eau peptonée tamponnée	Peptone de caséine (10 g), chlorure de sodium (5 g), phosphate disodiquedodécahydraté (9 g), phosphate monopotassique (1,5 g)	—	Solution de pré-enrichissement et de stabilisation des échantillons microbiologiques
Milieu TSE	Tryptone (1 g), chlorure de sodium (8,5 g)	7,0 ± 0,2	Utilisé pour la préparation des suspensions bactériennes et les opérations de rinçage

MINISTERE DU COMMERCE

Arrêté interministériel du 21 Safar 1441 correspondant au 21 octobre 2019 portant règlement technique fixant les critères microbiologiques des produits cosmétiques et d'hygiène corporelle.

Le ministre du commerce,

La ministre de l'industrie et des mines,

Le ministre de la santé, de la population et de la réforme hospitalière,

Vu le décret présidentiel n° 19-111 du 24 Rajab 1440 correspondant au 31 mars 2019, modifié, portant nomination des membres du Gouvernement ;

Vu le décret exécutif n° 90-39 du 30 janvier 1990, modifié et complété, relatif au contrôle de la qualité et à la répression des fraudes ;

Vu le décret exécutif n° 92- 65 du 12 février 1992, modifié et complété, relatif au contrôle de la conformité des produits fabriqués localement ou importés ;

Vu le décret exécutif n° 97-37 du 5 Ramadhan 1417 correspondant au 14 janvier 1997, modifié et complété, définissant les conditions et les modalités de fabrication, de conditionnement, d'importation et de commercialisation sur le marché national des produits cosmétiques et d'hygiène corporelle ;

Vu le décret exécutif n° 02-453 du 17 Chaoual 1423 correspondant au 21 décembre 2002 fixant les attributions du ministre du commerce ;

Vu le décret exécutif n° 05-464 du 4 Dhou El Kaâda 1426 correspondant au 6 décembre 2005, modifié et complété, relatif à l'organisation et au fonctionnement de la normalisation, notamment son article 28 ;

Vu le décret exécutif n° 05-467 du 8 Dhou El Kaâda 1426 correspondant au 10 décembre 2005 fixant les conditions et les modalités de contrôle aux frontières de la conformité des produits importés ;

Vu le décret exécutif n° 11-379 du 25 Dhou El Hidja 1432 correspondant au 21 novembre 2011 fixant les attributions du ministre de la santé, de la population et de la réforme hospitalière ;

Vu le décret exécutif n° 12-203 du 14 Joumada Ethania 1433 correspondant au 16 mai 2012 relatif aux règles applicables en matière de sécurité des produits ;

Vu le décret exécutif n° 13-378 du 5 Moharram 1435 correspondant au 9 novembre 2013 fixant les conditions et les modalités relatives à l'information du consommateur ;

Vu le décret exécutif n° 14-241 du Aouel Dhou El Kaâda 1435 correspondant au 27 août 2014 fixant les attributions du ministre de l'industrie et des mines ;

Vu le décret exécutif n° 17- 62 du 10 Joumada El Oula 1438 correspondant au 7 février 2017 relatif aux conditions et aux caractéristiques d'apposition de marquage de conformité aux règlements techniques ainsi que les procédures de certification de conformité ;

Arrêtent :

Article 1er. — En application des dispositions de l'article 28 du décret exécutif n° 05- 464 du 4 Dhou El Kaâda 1426 correspondant au 6 décembre 2005, modifié et complété, susvisé, le présent arrêté a pour objet de fixer les critères microbiologiques des produits cosmétiques et d'hygiène corporelle destinés au consommateur.

Art. 2. — Les dispositions du présent arrêté s'appliquent aux produits cosmétiques et d'hygiène corporelle prévus par le décret exécutif n° 97-37 du 5 Ramadhan 1417 correspondant au 14 janvier 1997, modifié et complété, susvisé, quelle qu'en soit l'origine ou la provenance.

Art. 3. — Au sens des dispositions du présent arrêté, on entend par :

— **Produit cosmétique et d'hygiène corporelle** : toute substance ou préparation, autre que les médicaments, destinée à être mise en contact avec les diverses parties superficielles du corps humain tels que l'épiderme, le système pileux et capillaire, les ongles, les lèvres, les paupières, les dents et les muqueuses, en vue de les nettoyer, de les protéger, de les maintenir en bon état, d'en modifier l'aspect, de les parfumer ou d'en corriger l'odeur ;

— **Critères microbiologiques** : critères définissant l'acceptabilité d'un produit ou d'un lot de produit cosmétique et d'hygiène corporelle, sur la base de l'absence, de la présence ou du nombre de micro-organismes par unité (s) de masse, volume ou lot ;

— **Respect des critères microbiologiques** : obtention des résultats satisfaisants ou acceptables, conformément à l'annexe I du présent arrêté, lors des analyses microbiologiques fondées sur les valeurs fixées pour ces critères, en tenant compte de la réglementation en vigueur relative aux modalités de prélèvement d'échantillons et de la conduite d'analyse ;

— **Micro-organismes** : les bactéries, les levures et les moisissures ;

— **Levure** : champignon unicellulaire qui se multiplie, principalement, de manière végétative en bourgeonnant ;

— **Moisissure** : mycélium formant des micromycètes y compris les spores et les conidies ;

— **Micro-organismes aérobies mésophiles** : bactéries, levures et moisissures mésophiles se développant en aérobiose ;

— **Escherichia coli** : bacille gram-négatif mobile, colonies lisses ;

— **Pseudomonas aeruginosa** : bacille gram-négatif mobile, colonies lisses pigmentées de couleur brune ou verdâtre ;

— **Staphylococcus aureus** : cocci gram-positif, principalement, regroupés en grappes, colonies lisses, généralement, pigmentées en jaune ;

— **Candida albicans** : levure qui forme des colonies convexes et crémeuses, de couleur blanche à beige, à la surface d'un milieu sélectif.

Art. 4. — Les produits cosmétiques et d'hygiène corporelle définis à l'article 3 ci-dessus, ne doivent pas contenir de micro-organismes dans des quantités pouvant présenter un risque inacceptable pour la santé et la sécurité du consommateur et ne doivent pas altérer sa qualité, dans le cadre de son utilisation prévue ou prévisible, conformément aux critères microbiologiques fixés à l'annexe I du présent arrêté.

Art. 5. — La procédure de prise d'essai et l'interprétation des résultats d'analyses microbiologiques des produits cosmétiques et d'hygiène corporelle est fixée à l'annexe II du présent arrêté.

Art. 6. — Les méthodes utilisées pour l'interprétation des résultats d'analyse microbiologiques des produits cosmétiques et d'hygiène corporelle sont :

• NA ISO 21149 (NA 8287) : « cosmétiques - microbiologie - dénombrement et détection des bactéries aérobies mésophiles » ;

• NA ISO 16212 : « cosmétiques - microbiologie - dénombrement des levures et des moisissures » ;

• NA ISO 18416 : « cosmétiques - microbiologie - détection de *Candida albicans* » ;

• NA ISO 22717 : « cosmétiques - microbiologie - recherche de *Pseudomonas aeruginosa* » ;

• NA ISO 21150 (NA 14808) : « cosmétiques - microbiologie - détection d'*Escherichia coli* » ;

• NA ISO 22718 (NA 14809) : « cosmétiques - microbiologie - détection de *Staphylococcus aureus* ».

Art. 7. — Le présent arrêté sera publié au *Journal officiel* de la République algérienne démocratique et populaire.

Fait à Alger, le 21 Safar 1441 correspondant au 21 octobre 2019.

Le ministre
du commerce

La ministre
de l'industrie et des mines

Saïd DJELLAB

Djamila TAMAZIRT

Le ministre de la santé, de la population
et de la réforme hospitalière

Mohamed MIRAOU

ANNEXE I

Critères microbiologiques des produits cosmétiques et d'hygiène corporelle

A. - Produits destinés aux enfants de moins de trois (3) ans, à la zone oculaire et aux muqueuses

Types de micro-organismes	Limites microbiologiques (UFC ⁽¹⁾ /g ou UFC/ml) ⁽²⁾	
	m ⁽³⁾	M ⁽⁴⁾
Micro-organismes aérobies mésophiles totaux	$\leq 10^2$	$\leq 2 \times 10^2$
Levures et moisissures	$\leq 10^2$	
<i>Escherichia coli</i>	Absence dans 1 g ou 1 ml	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Absence dans 1 g ou 1 ml	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Absence dans 1 g ou 1 ml	
<i>Candida albicans</i>	Absence dans 1 g ou 1 ml	

B. - Autres produits

Types de micro-organismes	Limites microbiologiques (UFC ⁽¹⁾ /g ou UFC/ml) ⁽²⁾	
	m ⁽³⁾	M ⁽⁴⁾
Micro-organismes aérobies mésophiles totaux	$\leq 10^3$	$\leq 2 \times 10^3$
Levures et moisissures	$\leq 10^2$	
<i>Escherichia coli</i>	Absence dans 1 g ou 1 ml	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Absence dans 1 g ou 1 ml	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Absence dans 1 g ou 1 ml	
<i>Candida albicans</i>	Absence dans 1 g ou 1 ml	

(1) UFC : Unité formant colonie

(2) UFC/g : Unité formant colonie pour les produits solides.

UFC/ml : Unité formant colonie pour les produits liquides.

(3) « m » : nombre de germes présents dans un gramme ou un millilitre de produit analysé, qui correspond à la valeur en dessous de laquelle la qualité du produit est considérée comme satisfaisante ;

(4) « M » : nombre de germes présents dans un gramme ou un millilitre de produit analysé, qui correspond à la valeur au dessus de laquelle la qualité du produit est considérée comme non satisfaisante.

ANNEXE II

Procédure de prise d'essai et interprétation des résultats d'analyses microbiologiques

I. Prise d'essai :

— les produits cosmétiques et d'hygiène corporelle sont prélevés dans leur conditionnement d'origine et transmis tels quels aux laboratoires. Ils ne doivent être ouverts qu'au début de l'analyse. En l'absence de prescriptions particulières, tous les échantillons doivent être entreposés à une température comprise entre 10 °C et 25 °C et à l'abri de la lumière ;

— l'échantillon prélevé, en vue d'analyses microbiologiques, doit être représentatif du lot d'où il provient ;

— l'échantillon représentatif d'un lot de produits cosmétiques et d'hygiène corporelle doit être composé, au minimum, de cinq (5) unités d'un même lot et présenter une taille minimale de 50 g en masse ou de 50 ml en volume ;

— l'interprétation des résultats d'analyse est effectuée sur la base d'un échantillon moyen composé du nombre d'unités formant l'échantillon.

II. Interprétation des résultats d'analyses microbiologiques :

1. Interprétation des résultats de dénombrement des micro-organismes aérobies mésophiles totaux :

Les résultats s'expriment de la façon suivante :

— si le résultat d'analyse est inférieur ou égal à « m », le résultat est satisfaisant ;

— si le résultat d'analyse dépasse « m » mais n'excède pas « M », le résultat est acceptable ;

— si le résultat d'analyse excède « M », le résultat est non satisfaisant.

2. Interprétation des résultats de dénombrement des levures et des moisissures (m = M) :

Les résultats s'expriment de la façon suivante :

— si le résultat d'analyse est inférieur ou égal à « m », le résultat est satisfaisant ;

— si le résultat d'analyse excède « m », le résultat est non satisfaisant.

3. Interprétation des résultats des micro-organismes pathogènes (*Escherichia coli*, *pseudomonas aeruginosa*, *staphylococcus aureus* et *candida albicans*) :

Les résultats s'expriment de la façon suivante :

— le résultat est satisfaisant lorsqu'il y a absence de micro-organismes pathogènes dans l'échantillon ;

— le résultat est non satisfaisant lorsque la présence de micro-organismes pathogènes est détectée dans l'échantillon.

**LIGNE DIRECTRICE DE L'OCDE POUR LES ESSAIS DE
PRODUITS CHIMIQUES****Effet irritant/corrosif aigu sur la peau****INTRODUCTION**

1. Régulièrement mises à jour, les Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques intègrent les meilleures données scientifiques disponibles. La révision de la présente Ligne directrice a porté plus particulièrement sur les possibilités d'améliorer le traitement des animaux de laboratoire et sur l'évaluation de toutes les informations existantes se rapportant aux produits chimiques testés en vue d'éviter les tests inutiles sur animaux. Cette nouvelle version de la Ligne directrice 404 (initialement adoptée en 1981 et révisée en 1992, 2002 et 2015) comprend une référence au Document Guide sur les Approches Intégrées en matière d'Essai et d'Évaluation (IATA en anglais) pour l'irritation et la corrosion de la peau (1). Ce Document Guide propose une approche modulaire pour les tests d'irritation et de corrosion de la peau. L'approche intégrée décrit plusieurs modules qui regroupent les sources d'information et les outils d'analyse, et fournit des guides sur la façon 1) d'intégrer et d'utiliser les informations existantes sur les données d'essai et autres données pour l'évaluation du potentiel irritant et corrosif pour la peau des produits chimiques testés, et 2) propose une approche dans les cas où des tests supplémentaires sont recommandés (1). La présente Ligne directrice recommande également d'opter, si cela s'avère nécessaire, pour une application successive plutôt que simultanée des trois timbres sur l'animal dans l'essai *in vivo* initial.

2. Les définitions de l'irritation et de la corrosion cutanées sont données en annexe à cette Ligne directrice.

CONSIDÉRATIONS INITIALES

3. Pour assurer à la fois la fiabilité des résultats scientifiques et le bien-être animal, on ne procédera pas aux essais *in vivo* tant que toutes les données relatives au caractère éventuellement corrosif ou irritant pour la peau du produit chimique testé n'auront pas été évaluées au cours d'une analyse de leur valeur, telle que décrite dans le Document Guide sur les Approches Intégrées en matière d'Essai et d'Évaluation (IATA en anglais) pour l'irritation et la corrosion de la peau (1), c'est-à-dire selon chacune des trois parties de ce Guide et de chacun des modules correspondants. De façon concise, la partie 1 couvre les données existantes réparties dans sept modules comprenant les données humaine *in vivo*, les données *in vitro*, les propriétés physico-chimiques (par exemple le pH, en particulier s'il est fortement acide ou alcalin) et les données autres que provenant d'essais. La partie 2 comprend une analyse des données existantes. Si cette analyse ne permet pas de conclure, la partie 3 doit être mise en œuvre avec des essais supplémentaires, en partant des essais *in vitro*, étant donné que les essais *in vivo* ne seront considérés qu'en dernier ressort.

1

© OCDE, (2015)

L'OCDE autorise l'utilisation de ce contenu pour usage personnel, dans un but non commercial sans autorisation préalable, sous réserve de mention de la source. Toute utilisation à but commercial doit faire l'objet d'une autorisation écrite préalable de l'OCDE.

Cette analyse doit donc permettre de diminuer le recours aux essais *in vivo* de l'effet corrosif ou irritant sur la peau des produits chimiques pour lesquels des études précédentes ont déjà livré suffisamment d'informations quant à ces deux aspects.

PRINCIPE DE L'ESSAI *IN VIVO*

4. Une seule dose du produit chimique testé est appliquée sur la peau de l'animal choisi pour l'expérience, les zones non traitées de la peau de l'animal servant de témoin. L'expérimentateur observe et note selon une échelle de valeurs le degré d'irritation ou de corrosion à intervalles déterminés, et le décrit de façon plus détaillée afin de fournir une évaluation complète des effets. La durée de l'étude doit être suffisante pour permettre d'évaluer la réversibilité des effets observés.

5. Les animaux qui manifestent des signes persistants de détresse et/ou de douleurs aiguës à n'importe quel stade de l'essai doivent être euthanasiés, et ces symptômes seront pris en compte dans l'évaluation du produit chimique testé. Les critères régissant la décision d'euthanasier les animaux moribonds et souffrants fortement sont exposés dans un autre document d'orientation (2).

PRÉPARATION DE L'ESSAI *IN VIVO*

Sélection de l'espèce animale

6. On choisira de préférence de jeunes adultes sains parmi les lapins albinos. L'utilisation d'une autre espèce sera justifiée, le cas échéant.

Préparation des animaux

7. Environ 24 heures avant l'essai, la région dorsale du tronc des animaux sera tondue à ras. On prendra soin de ne pas égratigner leur peau et seuls des animaux présentant une peau saine et intacte seront utilisés.

8. La fourrure de certaines souches de lapins est plus touffue par endroits et ce phénomène est plus marqué à certaines périodes de l'année. Ces plages à forte pilosité ne doivent pas recevoir la substance d'essai.

Conditions d'hébergement et d'alimentation

9. Les animaux sont placés dans des cages individuelles. La température du local expérimental est réglée à 20°C (±3°C) pour les lapins. Si l'humidité relative doit atteindre au moins 30 pour cent sans excéder de préférence 70 pour cent, en dehors des heures de nettoyage du local, on s'efforcera de maintenir le taux d'humidité autour de 50 à 60 pour cent. On appliquera un éclairage artificiel, alternant 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité. Les lapins seront nourris avec un mélange classique pour animaux de laboratoire et boiront de l'eau potable à volonté.

MODE OPÉRATOIRE

Application de la substance d'essai

10. Le produit chimique testé est appliqué sur une petite zone (environ 6 cm²) de la peau et recouverte par une compresse de gaze, assujettie au moyen d'un sparadrap non irritant. Si l'application directe est impossible (dans le cas de liquides ou de certaines pâtes, par exemple), le produit chimique testé est d'abord appliqué sur la compresse de gaze, laquelle est ensuite placée sur la peau. La compresse doit être maintenue en contact souple avec la peau à l'aide d'un pansement semi-occlusif durant la période d'exposition. Si le produit chimique testé est déposé sur la compresse, celui-ci doit être fixé sur la peau de façon à ce que le produit chimique soit réparti uniformément et entre bien en contact avec celle-ci. On fera en sorte que l'animal n'ait pas accès à la compresse et ne puisse ingérer ou inhaler le produit chimique testé.

11. Les produits chimiques liquides sont généralement testés à l'état non dilué. Si le produit chimique est solide (il peut être pulvérisé si nécessaire), il y a lieu de l'humidifier avec la plus petite quantité d'eau (ou au besoin d'un autre véhicule approprié) nécessaire à assurer un bon contact avec la peau. Lorsqu'on utilise un véhicule autre que l'eau, l'influence éventuelle du véhicule sur l'irritation de la peau par le produit chimique testé doit être minimale.

12. À la fin de la période d'exposition, qui dure normalement 4 heures, on enlève ce qui peut l'être du produit chimique testé restant, avec de l'eau ou un solvant approprié sans interférer avec la réaction ni altérer l'intégrité de l'épiderme.

Dose

13. Une dose de 0,5 mL de liquide ou de 0,5 g de solide ou de pâte est appliquée sur la plage à tester.

Essai initial (essai d'irritation/corrosion cutanée *in vivo* sur un seul animal)

14. Dès lors qu'un produit chimique testé est jugé corrosif, irritant ou non classé d'après l'analyse des données existantes ou d'essais *in vitro* préalables, tout essai sur animal s'avère superflu. Toutefois, si l'on estime que des données supplémentaires sont nécessaires, le test *in vivo* est conduit initialement en utilisant un seul animal et en respectant la procédure suivante. Jusqu'à trois timbres d'essai sont appliqués successivement sur l'animal. Le premier timbre est enlevé après trois minutes. Si aucune réaction cutanée grave n'est constatée, un deuxième timbre est appliqué à un endroit différent et retiré après une heure. Si les observations effectuées à ce stade indiquent que l'exposition peut être étendue à quatre heures sans que cela fasse trop souffrir l'animal, l'expérimentateur appliquera un troisième timbre durant quatre heures et attribuera une cote à la réaction.

15. Si un effet corrosif est détecté à l'issue d'une des trois expositions séquentielles, l'essai s'achève immédiatement. Si aucun effet corrosif n'est relevé après l'enlèvement du troisième timbre, l'animal est gardé en observation durant 14 jours, à moins qu'un effet corrosif se déclare avant.

16. Dans les cas où l'on s'attend à ce que le produit chimique testé soit peut-être irritant, mais pas corrosif, un seul timbre sera appliqué sur un animal durant quatre heures.

Essai confirmatoire (essai d'irritation cutanée sur des animaux supplémentaires)

17. Si l'essai initial ne révèle aucun effet corrosif, il convient de confirmer la réaction irritante ou négative sur deux animaux supplémentaires, traités chacun avec un timbre maintenu durant quatre heures. Si l'essai initial produit un effet irritant, l'essai confirmatoire peut être conduit en mode séquentiel ou par

l'exposition simultanée de deux animaux supplémentaires. Au cas exceptionnel où l'essai initial ne serait pas pratiqué, deux ou trois animaux peuvent être traités au moyen d'un seul timbre appliqué durant quatre heures. Si l'on utilise deux animaux et qu'ils expriment la même réaction, il n'est pas nécessaire de poursuivre l'essai. Dans le cas contraire, le troisième animal est également testé. L'utilisation d'animaux supplémentaires pourra être requise si les réactions sont équivoques.

Période d'observation

18. La durée de la période d'observation devrait être suffisante pour permettre d'évaluer complètement la réversibilité des effets observés. Il faudra cependant mettre fin à l'expérience dès que l'animal montre des signes persistants de douleur ou de détresse aiguës. La réversibilité des effets est déterminée par l'observation des animaux sur une période s'étendant jusqu'à 14 jours après l'enlèvement des timbres. Si la réaction s'avère réversible avant le quatorzième jour, l'expérience s'achève à ce moment-là.

Observations cliniques et cotation des réactions cutanées

19. L'observation des signes d'érythème et d'oedème chez tous les animaux et la cotation des réactions s'effectuent au bout de 60 minutes et ensuite 24, 48 et 72 heures après l'enlèvement du timbre. S'agissant de l'animal du test initial, la plage soumise à l'épreuve est aussi examinée immédiatement après l'enlèvement du timbre. Les réactions cutanées sont cotées et consignées conformément à l'échelle figurant dans le tableau ci-dessous. Si la peau présente des lésions qui n'accusent pas l'irritation ou la corrosion après 72 heures, il pourra être nécessaire d'observer l'animal jusqu'au quatorzième jour afin de déterminer la réversibilité des effets. En plus de l'observation de l'irritation, tous les effets toxiques locaux, tels que le dégraissage de la peau, et tout effet systémique nocif (par exemple, des effets se manifestant par des signes cliniques de toxicité et sur le poids corporel) doivent être relevés et décrits en détail. L'examen histopathologique est à envisager au cas où il faut éclaircir des réactions équivoques.

20. La cotation des réactions cutanées est forcément subjective. L'harmonisation de la cotation des réactions cutanées et l'appui aux laboratoires d'essai ainsi qu'au personnel chargé d'effectuer et d'interpréter les observations passent par une formation adéquate des expérimentateurs au système de cotation utilisé (voir tableau ci-dessous). Un manuel illustré sur la cotation de l'irritation cutanée et d'autres lésions pourrait être utile (10).

RÉSULTATS ET RAPPORT

21. Les résultats de l'étude devraient être récapitulés dans un tableau joint au rapport d'essai final et couvrir tous les aspects énumérés au paragraphe 24.

Évaluation des résultats

22. Le degré d'irritation cutanée devrait être évalué conjointement avec la gravité des lésions et leur caractère réversible. Les cotes individuelles ne fournissent pas une valeur absolue des propriétés irritantes d'une substance, celles-ci étant évaluées parallèlement à d'autres effets de la substance. En revanche, les cotes individuelles doivent être considérées comme des valeurs de référence, à évaluer en combinaison avec toutes les autres observations effectuées au cours de l'étude.



Formulation of an Alginate-Based Facial Serum

Maroua HAOUAS, Khadidja TALIOUINE and Nadia CHAOU

National Higher School of Marine Sciences and Coastal Management

Laboratory of Cellular and Molecular Biology 2

Maroua.haouas@enssmal.edu.dz

Abstract

This study presents the development of a natural facial serum based on alginate, a marine biopolymer extracted from brown seaweeds collected along the Algerian coast. Alginate is known for its biocompatibility and its ability to form hydrating and protective films on the skin. Its strong hydrophilic properties help maintain skin hydration, improve elasticity, and reinforce the skin barrier, making it suitable for dry and sensitive skin. The alginate is extracted using an alkaline process followed by purification, then incorporated into a serum formulation. This work highlights the valorization of local marine resources and the potential of sustainable marine-based cosmetics.

Introduction

The demand for natural and eco-friendly cosmetic products has increased significantly in recent years. Marine resources, particularly brown seaweeds, are rich in bioactive compounds with promising applications in skincare. Alginate, a natural polysaccharide extracted from brown seaweeds, is widely valued for its biocompatibility, hydrophilic properties, and ability to form protective films. These characteristics make it an excellent candidate for cosmetic formulations. This study aims to develop a natural facial serum based on alginate while promoting the sustainable valorization of marine resources from the Algerian coast.

Methodology

Collection and preparation of seaweeds: Brown seaweeds were collected along the Algerian coast, then washed, dried, and ground into a homogeneous powder.

Alginate extraction: Alginate was extracted using a controlled alkaline treatment, followed by filtration, precipitation, and purification steps to obtain a high-quality biopolymer.

Serum formulation: The purified alginate was incorporated into an aqueous formulation to obtain a homogeneous and stable facial serum.

pH measurement: The pH of the formulation was measured using a pH meter to ensure skin compatibility.

Viscosity analysis: Viscosity was measured using a viscometer to evaluate the texture and spreadability of the serum.

Stability tests: The stability of the serum was assessed through: Storage at different temperatures (4° C, room temperature, 40° C). Centrifugation test to detect phase separation. Visual observation (color, odor, homogeneity) over time.

Microbiological analysis: Microbiological tests were performed to ensure the absence of contamination and to guarantee product safety.

Results and Discussion

Alginate Yield: The extraction process resulted in an alginate yield of approximately 24%, indicating efficient recovery using ethanol precipitation.



Serum gel formulation: The combination of alginate and hyaluronic acid led to the formation of a **gel-based serum**, characterized by a smooth, homogeneous, and non-sticky texture. This gel form improves skin application and product distribution.



pH Measurement: The serum pH ranged between 4.5 and 5.0, which is suitable for skin compatibility.



Viscosity Test: The formulation exhibited a moderate viscosity, ensuring good consistency and easy application.

Stability: The serum remained homogeneous and stable, with no phase separation or noticeable changes.



Microbiological Analysis: No contamination was detected, including the absence of pathogenic bacteria such as *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa*, as well as yeasts and molds.

Conclusion

Brown seaweeds, particularly alginate, represent promising natural ingredients for cosmetic applications. The development of a gel-based serum combining alginate and hyaluronic acid resulted in a stable, skin-compatible, and safe formulation. These findings confirm the potential of alginate as an effective and sustainable component in the development of innovative cosmetic products.

References

- Lee, K. Y., & Mooney, D. J. (2012). Alginate: properties and biomedical applications. *Progress in Polymer Science*, 37(1), 106–126.
- Bixler, H. J., & Porse, H. (2011). A decade of change in the seaweed hydrocolloids industry. *Journal of Applied Phycology*, 23(3), 321–335.

PROTOTYPE OF ALGINATE + HYALURONIC ACID SERUM



The final Product



