

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحر وتهيئة الساحل

École Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme

D'Ingénieur en Sciences de la Mer

Option : biotechnologie marine

Thème :

*Extraction de biomolécules à haute valeur ajoutée à partir des coproduits de crustacés en vue d'une valorisation comme ingrédients fonctionnels dans les domaines alimentaire et pharmaceutique*

Présenté par :

**HADDAB Meriem**

**KORTBI Rym**

Soutenu le 07/12/2020 devant le jury composé de :

Dr. REFES W.	Maître de conférences A	(ENSSMAL)	Président
Pr. CHADER H.	Professeur	(ANPP)	Promoteur
Mme AMROUCHE L.	Maître assistante A	(ENSSMAL)	Co-promotrice
Dr KHELIFA N.	Maître de conférences B	(ENSSMAL)	Examinatrice
Dr ADDA-ABBOU L,	Maître assistante A	(ANPP)	Examinatrice

**ANNEE UNIVERSITAIRE : 2019-2020**

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحر وتهيئة الساحل  
Ecole 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**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Hydrobiologie Marine et Continentale**

**Spécialité : biotechnologie marine**

**Thème :**

*Extraction de biomolécules à haute valeur ajoutée à partir des coproduits de crustacés en vue d'une valorisation comme ingrédients fonctionnels dans les domaines alimentaire et pharmaceutique*

Présenté par :

**HADDAB Meriem**

**KORTBI Rym**

Soutenu le 07/12/2020 devant le jury composé de :

Dr REFES W.	Maître de conférences A	(ENSSMAL)	Président
Pr CHADER H.	Professeur	(ANPP)	Promoteur
Mme AMROUCHE L.	Maître assistante A	(ENSSMAL)	Co-promotrice
Dr KHELIFA N.	Maître de conférences B	(ENSSMAL)	examinatrice
Dr ADDA-ABBOU L.	Maître assistante A	(ANPP)	examinatrice

**Année universitaire : 2019-2020**

## **Remerciements**

*Tout d'abord, nous remercions Dieu de nous avoir données la force pour achever ce travail.*

*Nous tenons à remercier vivement Mr. CHADER H. professeur en pharmacie à la faculté de médecine d'Alger et chef de service au LNCPP, ainsi que Mme. AMROUCHE L. de nous avoir encadrées et guidées tout au long de notre travail.*

*Tout comme nous adressons nos sincères remerciements à :*

*M. REFES W. de nous avoir fait part de ses connaissances afin d'identifier les espèces et pour nous avoir honoré en acceptant de présider le jury.*

*Mme KHELIFA N. et ABOU-ADDA L. d'avoir bien voulu examiner et juger ce modeste travail.*

*Mme GUERROUMI H. ingénieur du laboratoire de biochimie pour sa disponibilité et son aide tout au long des manipulations, ainsi que Mme CHIOUKH S, M. MATOUK Y et M. DJERRAI N. et tout le personnel de l'ENSSMAL.*

*M. CHAHDANE R. du CRND, et M. TAYEB RAHMANI D. et M. TAHTAT D. du CRNA pour nous avoir facilité l'accès à leurs laboratoires afin d'effectuer les analyses de XRF et de FTIR.*

*Nous remercions vivement Pr KACHER de l'ENSSMAL et M. ALI BILT de la pêcherie d'Alger de nous avoir orientées et aidées dans la collecte des échantillons.*

*Nous remercions également les poissonniers de la pêcherie de la madrague, ainsi que les pêcheurs du port de Cherchell*

*Tout le personnel de l'ANPP en particulier : Fahima, Mustapha et Rabeh l'animalier.*

*Nous remercions également Mme LALLEM A. pour son aide*

## ***Dédicace :***

*Je dédie ce modeste travail :*

*A mes chers parents Abd elkrim et Karima qui ont toujours été présents pour moi et qui m'ont toujours soutenu et encouragée.*

*A mon petit frère Sidali que j'aime trop,*

*A ma binôme et ma sœur KORTBI Rym*

*A toute la famille HADDAB*

*Et à toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, A tous mes amis en qui j'ai toujours trouvé soutien et réconfort.*

***HADDAB Meriem***

## ***Dédicace :***

*Je dédie ce modeste travail :*

*A mes très chers parents qui ont toujours été présents à mes côtés, et qui ont veillé à mon  
bonheur et ma réussite*

*A mon très cher frère, sur qui j'ai toujours pu compter*

*A ma grand-mère que dieu la protège*

*A toute ma famille*

*A ma binôme et ma sœur HADDAB Meriem*

*A tous mes amis*

*A toute les personnes que j'ai pu rencontrer et qui ont contribué à ma réussite.*

***KORTBI Rym***

**TABLE DES MATIERES****LISTE DES TABLEAUX****LISTE DES FIGURES****LISTE DES ABREVIATIONS****INTRODUCTION.....2****Chapitre I : Généralités**

I.1. Situation mondiale de la production halieutique et aquacole des crustacés.....	5
I.2. Situation nationale de la production halieutique et aquacole des crustacés.....	6
I.3. Généralités sur les espèces étudiées.....	7
I.3.1. Classification, biologie et répartition géographique.....	8
I.4. Les coproduits des crustacés, voies de valorisation et enjeux économiques.....	11
I.4.1. Notions de coproduits et de déchets.....	11
I.4.2. Les coproduits de crevettes et de crabes.....	12
I.4.3. Enjeux économiques.....	12
I.4.4. Biomolécules dérivées des coproduits de crevettes et de crabes et domaines d'applications.....	13
I.4.4.1. Chitine, chitosane et dérivés.....	13
I.4.4.2. Astaxanthine.....	15
I.4.4.3. Les peptides à activité antimicrobienne PAMs.....	16
I.4.4.4. Substances aromatiques.....	17
I.4.4.5. Éléments minéraux et vitamines.....	17
I.4.4.6. Huiles riches en $\omega 3$ et $\omega 6$ .....	17
I.4.4.7. Phosphatase alcaline.....	18
I.5. L'inflammation.....	18
I.6. La cicatrisation.....	19

**Chapitre II : Matériel et méthodes**

II.1. Matériel.....	21
II.1.1. Matériel biologique.....	21
II.1.2. Matériel non biologique.....	21

II.2. Échantillonnage.....	22
II.2.1. Collecte de la matière première et identification des espèces de crabes et de crevettes .....	22
II.2.2. Prétraitement des carapaces de crustacées .....	22
II.3. Détermination de la composition biochimique globale des coproduits des crustacés .....	23
II.3.1. Détermination de la teneur en eau .....	23
II.3.2. Détermination de la teneur et de la composition en matière minérale .....	23
II.3.2.1. Détermination de la teneur totale en matière minérale.....	23
II.3.2.2. Détermination de la composition et la concentration des matières minérales par spectrométrie de fluorescence X (XRF).....	24
II.3.3. Détermination de la teneur en protéines totales .....	25
II.3.4. Détermination de la teneur en lipides totaux.....	25
II.4. Extraction et caractérisation des pigments à partir des coproduits des crustacés .....	27
II.4.1. Préparation de l'extrait brut.....	27
II.4.2. Calcul du rendement d'extraction des pigments .....	28
II.4.3. Séparation et identification des pigments.....	28
II.4.3.1. Analyse chromatographique sur colonne d'adsorption de gel de silice .....	28
II.4.3.2. Analyse spectrophotométrique .....	31
II.4.3.3. Analyse chromatographique sur couche mince .....	31
II.5. Extraction de la chitine et du chitosane .....	32
II.5.1. Préparation des échantillons de crabes et de crevettes .....	32
II.5.2. Dépigmentation, délipidation .....	32
II.5.3. Déminéralisation .....	32
II.5.4. Déprotéinisation et désacétylation de la chitine .....	33
II.5.5. Rendement du massique du chitosane.....	33
II.6. Caractérisation du chitosane produit.....	35
II.6.1. Test de solubilité .....	35
II.6.2. Calcul du degré de déprotéinisation .....	35
II.6.3. Calcul du degré de déminéralisation .....	35
II.6.4. Calcul du degré de désacétylation .....	35
II.6.4.1. Dosage potentiométrique .....	35
II.6.4.2. FTIR (Spectroscopie infrarouge à transformation de Fourier FTIR).....	36
II.7. Détermination des propriétés pharmacologiques des extraits (pigments et chitosane) .....	37
II.7.1. Activité antimicrobienne des pigments .....	37

II.7.2. Détermination de l'activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i> des extraits de chitosane de crabe et de crevette.....	38
II.7.3. Activité cicatrisante des extraits de chitosane de crevettes.....	40
<b>Chapitre III : Résultats et discussions</b>	
III.1. Identification des espèces de crabes et de crevettes .....	43
III.2. Composition biochimique globale des coproduits de crevettes et de crabes.....	45
III.2.1. Composition minérale des coproduits de crabes et crevettes.....	47
III.3. Rendement d'extraction, identification et caractérisation des pigments .....	48
III.3.1. Rendement d'extraction .....	48
III.3.2. Caractéristiques spectrales des pigments extraits .....	49
III.3.3. Caractérisation chimique des pigments extraits.....	52
III.4. Rendement massique des chitosanes produits .....	54
III.5. Caractérisation des chitosanes produits.....	55
III.5.1. Solubilité .....	55
III.5.2. Caractérisation biochimique du chitosane .....	56
III.5.3. Degré de désacétylation du chitosane .....	56
III.5.3.1. Dosage potentiométrique.....	56
III.5.3.2. Spectrophotométrie infrarouge (FTIR) .....	57
III.6. Propriétés pharmacologiques des pigments et des chitosanes produits à partir des coproduits de crevettes et de crabes .....	59
III.6.1. Activité antimicrobienne des pigments extraits .....	59
III.6.2. Activité anti inflammatoire des chitosanes produits.....	60
III.6.3. Activité cicatrisante du chitosane extrait des crevettes.....	62
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>68</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	
<b>ANNEXES</b>	

## Liste des tableaux

### Chapitre I : Généralités

Tableau I.1: Evolution des statistiques de la pêche entre 2017 et 2018 en Algérie (ONS,2018) ...	7
Tableau I.2: Applications industrielles de la chitine et du chitosane dans le domaine biomédical et pharmaceutique .....	15

### Chapitre II : Matériel et méthodes

Tableau II.1: Matériel et réactifs utilisés.....	21
Tableau II.2: Les germes recherchés et les milieux utilisés.....	37

### Chapitre III : Résultats et discussions

Tableau III.1: Les critères distinctifs des espèces identifiées (Fischer,1987).....	44
Tableau III.2: Données comparatives de la composition biochimique globale des coproduits de crevettes et de crabes.....	45
Tableau III.3: Les rendements d'extraction des caroténoïdes totaux .....	48
Tableau III 4: Les rapports frontaux des extraits bruts et des fractions F2 et F3.....	53
Tableau III.5: Les valeurs des rapports frontaux des différents caroténoïdes (Lorenz Todd, 1998) .....	54
Tableau III.6: Rendements d'extraction du chitosane .....	54
Tableau III.7: Degrés de déminéralisation et de déprotéinisation des chitosanes produits.....	56
Tableau III.8 : Les degrés de désacétylation de la chitine .....	58
Tableau III.9: Pouvoir antimicrobien des échantillons de chitosane vis-à-vis des souches pathogènes testées. ....	59
Tableau III.10: Les PIO du chitosane en suspension et solubilisé.....	61
Tableau III.11: Descriptions macroscopiques des brûlures traitées avec du chitosane extrait des crevettes durant 15jours (avec un intervalle de 5 jours).....	63

## Liste des figures

### Chapitre I : Généralités

Figure I.1: La production halieutique et aquacole mondiale (FAO, 2018) .....	5
Figure I.2: production mondiale de crustacés issus de la pêche et de l'aquaculture entre 2007 et 2017 (FAO, 2019) .....	6
Figure I.3: <i>Liocarcinus depurator</i> (Linnaeus, 1758) (FISCHER, 1987) .....	8
Figure I.4: <i>Aristeus antennatus</i> (Risso, 1816) (FISCHER, 1987).....	9
Figure I.5: <i>Parapenaeus longirostris</i> (Lucas, 1846) (FISCHER, 1987).....	10
Figure I.6: Proportion des différentes voies de valorisation des coproduits d'origine marine (ANDRIEUX, 2004) .....	12
Figure I.7: Les structures chimiques, a chitine, b chitosane (THARANATHAN et KITTUR, 2003).....	14
Figure I.8: La structure chimique de l'astaxanthine (RANDRIAMAHATODY, 2011) .....	15

### Chapitre II: Matériel et méthodes

Figure II.1: Séchage des échantillons.....	22
Figure II.2: Incinération dans le four à moufle .....	24
Figure II.3: Dispositif de Soxhlet .....	26
Figure II.4: Diagrammes d'extraction des pigments caroténoïdes .....	30
Figure II.5: Chromatographie sur couche mince.....	32
Figure II.6: Diagramme d'extraction du chitosane .....	34
Figure II.7 : le test anti-inflammatoire, (a) induction d'une inflammation cutanée par le xylène à 96% après une heure de l'application du chitosane, (b) sacrifice des souris dans un bain d'éther, (c) coupure des oreilles, (d) la prise des disques, (e) pesée des disques. ....	40
Figure II.8: les étapes de l'activité cicatrisante, (a) anesthésier les rats, (b) épilation de la face dorsale, (c) induction d'une brûlure, (d) calquer la superficie de la plaie, (e) application du traitement, (f) couvrir la brûlure.....	41

### Chapitre III: Résultats et discussions

Figure III.1: les différentes espèces identifiées, (a) <i>Parapenaeus longirostris</i> , (b) <i>Liocarcinus depurator</i> et (c) <i>Aristeus antennatus</i> .....	43
Figure III.2: La composition biochimique des coproduits de crevette (a), et de crabe (b) exprimée en pourcentage par rapport à la matière sèche (MS).....	47
Figure III.3 : Composition en minéraux des carapaces de crevettes (a) et de crabes (b).....	47
Figure III.4: Pigments de crabes (extrait brut et fractions) .....	49

Figure III.5: Pigments de crevettes (extrait brut et fractions) .....	49
Figure III.6: Extraits bruts méthanoïques de crabes et crevettes.....	50
Figure III.7: Spectres d'absorption des pigments extraits des carapaces de crabes et de crevettes ; (a et e) les extraits bruts ; (b et f) les esters d'astaxanthine ; (c et g) la fraction d'astaxanthine ; (d et h) les extrait méthanoliques. ....	50
Figure III.8: Spectres d'absorption de l'astaxanthine extraite d'Adonis amurensis (gauche), d'astaxanthine standard (droite) (ZHANG et al., 2015) .....	51
Figure III.9: Chromatographie sur couche mince des extraits de crevette (1) et de crabe (2) .....	52
Figure III.10: Solubilisation des chitosanes extraits de crabes et de crevettes dans l'acide acétique .....	55
Figure III.11: Spectres FTIR des chitosanes de crevettes (a) et de crabes (b) produits .....	57
Figure III.12: Les diamètres d'inhibition des extraits méthanoliques des pigments (a: crabe contre S.aureus); (b: crevette contre E.coli) ; (c : crevette contre Enterococcus SF).....	60
Figure III.13: Potentiel d'inhibition de l'œdème (PIO) pour chaque traitement appliqué sur souris en (%). Les chitosanes de crabes et de crevettes en suspension dans l'huile de tournesol et le chitosane de crabes et de crevettes solubilisés dans l'acide acétique ai.....	61
Figure III.14: Evolution des surfaces brûlées en cm <sup>2</sup> .....	64

## Liste des abréviations

**ADEME:** L'agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie ;

**BSA:** Bovin Serum Albumin ;

**CCM :** chromatographie sur couche mince ;

**CNRDPA:** Centre National de la Recherche et du Développement de la Pêche et de l'Aquaculture ;

**CRNA :** Centre de Recherche Nucléaire d'Alger ;

**CRND :** centre de Recherche Nucleaire de Draria ;

**DA:** Degré d'acétylation ;

**DDA:** degré de désacétylation ;

**DM:** degré de déminéralisation ;

**DO:** densité optique ;

**DP:** degré de déprotéinisation

**E.U:** états unis ;

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

**FAO:** Food and Agriculture Organization;

**FTIR:** Fourier Transform InfraRed spectroscopy;

**JORA:** Journal Officiel de la République Algérienne ;

**KBr :** bromure de potassium ;

**kDa:** kilo Dalton ;

**L:** teneur en lipides ;

**LNCPP:** Laboratoire National de Contrôle de Produits Pharmaceutiques ;

**McF :** McFarland ;

**MS :** matière sèche ;

**ONS :** Office National des Statistiques ;

**PAMs :** Peptides à activité antimicrobienne ;

**pH:** potentiel d'hydrogène ;

**PIO :** pourcentage d'inhibition d'œdème ;

**R:** pourcentage de la réduction des surfaces brûlées ;

**RB:** réactif de Bradford ;

**Rdt :** rendement d'extraction ;

**R<sub>f</sub>:** rapport frontal ;

**S/V:** soluté/volume ;

**SF :** streptocoque fécaux (*Enterococcus*) ;

**VF:** volume final;

**XRF:** X rays fluorescence.

# **Introduction**

## Introduction

La diversité biologique et biochimique du milieu aquatique est en fait une excellente source de composés à haute valeur ajoutée aux nombreuses applications. En effet, les biomolécules d'origine marine ont des caractéristiques uniques et sont souvent concentrées dans la partie non comestible de l'animal à savoir, la carapace, la tête, le squelette, les viscères, la peau, les pinces, le sang et la coquille.

Les coproduits représentent jusqu'à 70% du poids de la crevette fraîche et 35 à 40% du poids du crabe frais. C'est donc une source précieuse de plusieurs molécules et substances naturelles et bioactives; on peut citer entre autres les protéines, les vitamines, les lipides, les éléments minéraux et les acides aminés (SENE, 2008), les pigments tels que l'astaxanthine (LEE *et al.* 1999) et les polysaccharides tels que le chitosane (HEUX *et al.*,2000).

La valorisation de ces sous-produits permettrait, en plus du respect de l'environnement, d'optimiser les profits des entreprises de transformations. Ils deviennent ainsi une matière première pour la production de nouvelles substances à applications en nutrition et en santé humaine et animale, en cosmétique, en dépollution et en énergie.

L'un des polysaccharides actuellement, le plus étudié sans conteste, est le chitosane qui est un dérivé de la chitine. Celle-ci est le deuxième composé le plus abondant dans la nature après la cellulose et constitue la composante principale de l'exosquelette des crustacés. Le produit "chitosane" est un biomatériau biocompatible, biodégradable, non toxique, non allergène. Il est doté de multiples activités biologiques, notamment antiallergique, antioxydante, anti-hypertensive, anticoagulante, antidiabétique, anti-obésité, anticancéreuse, anti-inflammatoire et antimicrobienne (KHAN *et al.*,2020; NATARAJAN *et al.*,2017; TEIXEIRA *et al.*,2017).

Une autre alternative de la valorisation des coproduits de crustacés, consiste à extraire les caroténoïdes, essentiellement l'astaxanthine. Ces composés naturels liposolubles possèdent dans leur structure chimique de très nombreuses doubles liaisons conjuguées qui sont responsables de l'activité anti-oxydantes. Par ailleurs, la dégradation oxydative de ces molécules génère des précurseurs de la vitamine A (rétinol) dont le rôle primordial est perception visuelle. Ces caroténoïdes agissent également de manière très efficace et spécifique dans la suppression des tumeurs cellulaires et augmentent la réponse anti-inflammatoire et stimulent le système immunitaire (KAVITHA *et al.* 2013; YASUI *et al.* 2011; YUAN *et al.* 2011).

Le présent travail s'inscrit dans le cadre général de la valorisation biotechnologique des produits de la pêche accessoire comme les crabes "*Liocarcinus depurator* (Linnaeus, 1758)" provenant de la baie de Bou-Ismaïl et des coproduits issus de la transformation des crevettes rouges "*Aristeus*

*antennatus* (Risso, 1816)" et blanches "*Parapenaeus longirostris* (Lucas 1846)" issues de la baie d'Alger.

L'objectif est, d'une part, d'analyser la composition biochimique de ces coproduits pour contribuer à enrichir les connaissances sur ces derniers issus de la région du centre algérois, d'autre part, de procéder à l'extraction chimique de deux biomolécules "l'astaxanthine et le chitosane", pour enfin étudier leurs propriétés pharmacologiques. Les principales activités testées sont antibactérienne *in vitro* pour l'astaxanthine et les activités anti-inflammatoire et cicatrisante *in vivo* pour le chitosane.

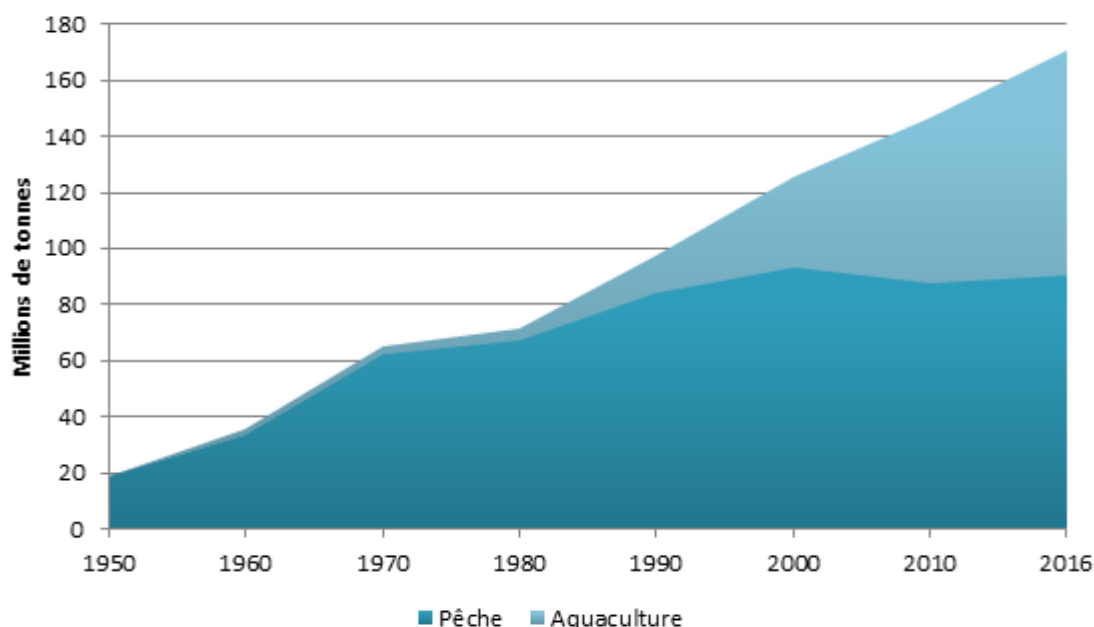
Ce mémoire s'articule autour de trois volets :

- Dans le premier chapitre, une vision panoramique brève est donnée sur la situation mondiale et nationale de la production halieutique et aquacole des crustacés, sur les enjeux économiques de la valorisation des coproduits. Un aperçu est donné sur la biologie et l'écologie des espèces choisies et sur les biomolécules dérivées des coproduits de crevettes et de crabes et leurs domaines d'application.
- Le deuxième chapitre présente le matériel utilisé et décrit les protocoles expérimentaux adoptés pour évaluer la composition chimique globale des coproduits de crabes et de crevettes, pour caractériser et évaluer les activités anti-inflammatoires, cicatrisantes et antibactériennes des biomolécules actives élaborées.
- Le troisième chapitre est consacré à l'interprétation des différents résultats obtenus.

# **Chapitre I : Généralités**

### I.1. Situation mondiale de la production halieutique et aquacole des crustacés

La production halieutique et aquacole mondiale n'a cessé d'augmenter depuis les années 50. D'abord grâce à la pêche, à partir des années 50 jusqu'aux années 90 environ, où l'aquaculture ne représentait qu'un faible pourcentage de la production totale. Ensuite, à partir des années 90, la pêche a connu une certaine stabilisation, ce qui n'a pas empêché la production mondiale de continuer d'augmenter grâce à l'aquaculture qui a connu un essor important en passant de 13 millions de tonnes en 1990 à 80 millions de tonnes en 2016 ; la production totale (halieutique et aquacole), cette année-là, était de 170,94 millions de tonnes (figure I.1) (FAO,2018).

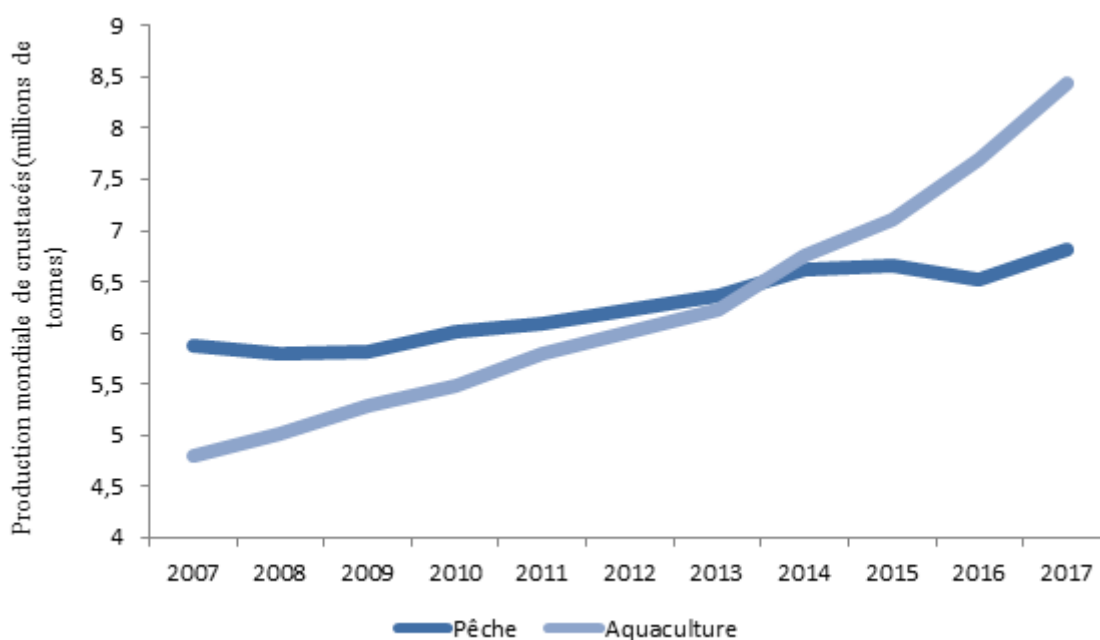


**Figure I.1:** La production halieutique et aquacole mondiale (FAO, 2018)

En 2017, la production halieutique et aquacole mondiale a encore augmenté pour arriver à 172,64 millions de tonnes. De cette production, 53,58% sont issus de la pêche (soit 92,5 millions de tonnes) et 46,41% sont issus de l'aquaculture (soit 80,13 millions de tonnes). La Chine représente à elle seule 36% de la production mondiale (plus de 62 millions de tonnes), elle occupe la première place aussi bien dans le domaine de la pêche que celui de l'aquaculture.

Le groupe des crustacés représente une faible part de la production mondiale. En effet, en 2017, la production de crustacés, issus de la pêche et de l'aquaculture, était de 15,25 millions de tonnes, soit environ 8,83% de la production totale, avec une part légèrement plus élevée pour l'aquaculture avec 8,44 millions de tonnes contre 6,81 millions de tonnes pour la pêche.

Toutefois, même si ce groupe ne représente qu'un faible taux par rapport au total de la production mondiale, leur production n'a cessé d'augmenter au cours de ces dernières années, notamment pour le secteur de l'aquaculture, où elle est passée de 4,79 millions de tonnes en 2007 à 8,44 millions de tonnes en 2017 (figure I.2) (FAO, 2019).



**Figure I.2:** production mondiale de crustacés issus de la pêche et de l'aquaculture entre 2007 et 2017 (FAO, 2019)

## I.2. Situation nationale de la production halieutique et aquacole des crustacés

En Algérie, la production de crustacés de l'année 2018 était de 2192 tonnes contre, 2326 tonnes en 2017 comme le montre le tableau I.1, ce qui représente une légère baisse de 5,8%. Toutefois, ce groupe d'espèces, ne représente que 1,8% de la production halieutique totale, ce qui est très faible comparé à d'autres groupes tels que les poissons pélagiques qui en représentent jusqu'à 76,8%.

De plus, les crustacés n'apportent pas une grande contribution à l'économie algérienne puisqu'ils ne représentent que 2,5% du total des exportations (2018) (ONS, 2018).

**Tableau I.1:** Evolution des statistiques de la pêche entre 2017 et 2018 en Algérie (ONS, 2018)

	2017	2018	2018 (%)	2018/2017
<i>production halieutique (tonnes)</i>				
Poissons Pélagiques	77 776	92 392	76,8	18,8
Poissons Démersaux	6 792	6 177	5,1	-9,1
Mollusques	1 267	1 593	1,3	25,7
Crustacés	2 326	2 192	1,8	-5,8
Autres (production plaisancière et aquacole)	20 139	18 000	15,0	-10,6
<b>Total</b>	<b>108 300</b>	<b>120 354</b>	<b>100,0</b>	<b>11,1</b>
Dont production aquacole	4 200	5 100	/	21,4
<i>Exportations (tonnes)<sup>1</sup></i>				
Poissons vivants	329,90	395,17	9,5	19,8
Poissons frais	565,13	1 150,06	27,7	103,5
Poissons congelés	63,03	6,76	0,2	-89,3
Filets de poissons	37,50	0		-100,0
Poissons fumés, salés et séchés	20,43	3,80	0,1	-81,4
Crustacés	150,12	102,23	2,5	-31,9
Mollusques	385,22	2 444,90	58,8	534,7
Préparations et conserves de poissons	119,28	55,65	1,3	-53,3
<b>Total</b>	<b>1 670,61</b>	<b>4 158,57</b>	<b>100,0</b>	<b>148,9</b>
Valeur (Millions DA)	816,73	1 443,15	/	76,7
Valeur (Millions USD)	7,36	12,38	/	68,2

Source : Ministère de l'Agriculture, du Développement Rural et de la pêche.

<sup>1</sup> : Centre National d'Information et des Statistiques (CNIS)/Direction Générale des Douanes

### I.3. Généralités sur les espèces étudiées

Les Crustacés forment un sous-embanchement de l'embanchement des arthropodes, comprenant notamment les écrevisses, les langoustes, les crabes, les anatifes, les cloportes (WATERMAN et CHACE Jr, 1960) et toutes les autres formes à respiration branchiale, à téguments solides composant une carapace chitineuse. Ce sont tous des animaux au genre de vie extrêmement variable, organisés pour vivre dans l'eau, et l'immense majorité de ces êtres habitent la mer.

Dans leurs majorités ils appartiennent à l'ordre des décapodes ainsi nommés car ils possèdent 5 paires de pattes ambulatoires terminées soit par une griffe, soit par une pince. Les crustacés marcheurs vivent de nombreuses heures hors de l'eau et voyage très bien au frais dans des caisses avec de la freluche humide.

Parmi les crustacés, trois espèces font l'objet de cette étude. Il s'agit de La crevette rouge *Aristeus antennatus* (Risso, 1816), la crevette rose *Parapenaeus longirostris* (Lucas, 1846) et le crabe *Liocarcinus depurator* (Linnaeus, 1758).

### I.3.1. Classification, biologie et répartition géographique

- ***Liocarcinus depurator* (Linnaeus, 1758):**

Ce crabe est reconnaissable à la dernière paire de pattes qui est en forme de pagaies de couleur bleue, ainsi qu'au bord frontal comportant trois dents égales, triangulaires et aiguës (figure I.3) (FISCHER, 1987)

Il fait principalement partie des prises accessoires des pêches, et il est régulièrement présent sur les marchés en Espagne, mais rarement en Algérie (FISCHER, 1987).

#### **Systématique** (INPN, 2020) :

La position systématique de cette espèce est la suivante

**Règne :** Animalia

**Embranchement :** Arthropoda

**Classe :** Malacostraca

**Ordre :** Decapoda

**Famille :** Portunidae

**Genre :** *Liocarcinus*

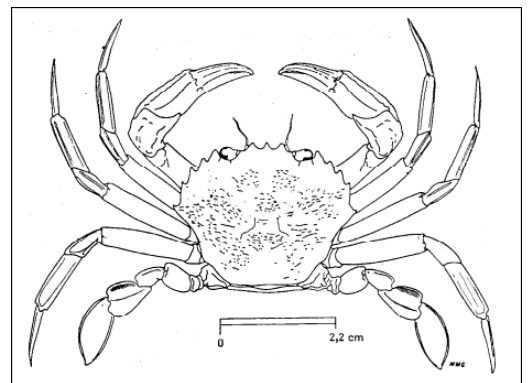
**Espèce :** *Liocarcinus depurator* (Linnaeus, 1758)

→ **Nom vernaculaire:** étrille à pattes bleues (FISCHER, 1987)

**Biologie de l'espèce :** L'étrille à pattes bleues est une espèce démersale, qu'on peut retrouver jusqu'à 450 m de profondeur.

**Reproduction:** Les femelles sont ovigères durant toute l'année en Méditerranée.

**Distribution géographique :** Cette espèce est présente en Méditerranée, ainsi qu'en Atlantique Est, de la Mauritanie à la Norvège, en passant par la Manche et les côtes anglaises (FISCHER, 1987)



**Figure I.3:** *Liocarcinus depurator* (Linnaeus, 1758) (FISCHER, 1987)

- ***Aristeus antennatus* (Risso, 1816)**

La crevette rouge *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) par sa qualité et son abondance ainsi que par sa grande valeur économique se trouve très recherchée sur les côtes algériennes. *A. antennatus* est caractérisée par la présence d'une carapace de nature chitineuse secrétée par l'épiderme et sert aussi d'exosquelette, elle est également caractérisée par une teneur élevée en chitine, un corps divisé en segments articulés, et une présence d'appendices articulés : les antennes, les antennules, les mandibules (mâchoire antérieure), les maxilles (mâchoires postérieures), les maxillipèdes (patte mâchoires), les péréiopodes, les ptéropodes et les uropodes (figure I.4) (KHERRAZ, 2006).

**Systématique** (INPN, 2020) :

*Aristeus antennatus* fut décrite pour la première fois par (Risso, 1816), et nommée *Pneus antennatus* comprise dans la famille des penaeidae (Rafinesque, 1815), et tient actuellement la position taxinomique décrite ci-dessous :

**Règne** : Animalia

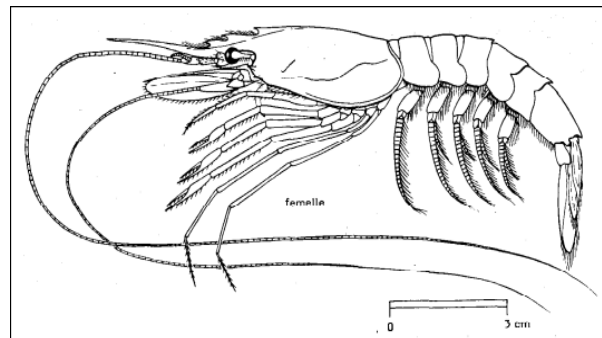
**Phylum** : Arthropoda

**Classe** : Malacostraca

**Ordre** : Decapoda

**Famille** : Aristeidae

**Genre** : *Aristeus*



**Figure I.4:** *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) (FISCHER, 1987)

**Espèce** : *Aristeus antennatus* (Risso, 1816)

→ **Nom vernaculaire** : crevette rouge (FISCHER, 1987)

**Biologie et habitat** : la crevette rouge est une espèce de crustacés décapodes, sa sexualité se distingue par la taille, les femelles ont une taille plus grande que les mâles. Elle est présente dans les fonds vaseux entre 200 et 800 m de profondeur. Elle se nourrit de crustacés, de térébratules, de poissons, de foraminifères et d'échinodermes (NOËL, 2015).

**Reproduction** : elle se reproduit en été, les œufs sont libérés en pleine eau et les larves deviennent planctoniques pour effectuer leur développement (FISCHER, 1987).

**Distribution géographique :** cette crevette est présente dans l'Atlantique, le Golfe de Gascogne aux îles du Cap Vert, ainsi que dans toute la mer Méditerranée (FISCHER, 1987).

- *Parapenaeus longirostris* (Lucas 1846)

La description de l'espèce pour la première fois sur les côtes algériennes est attribuée à Lucas en 1846. Ce n'est qu'en 1926 que Gruvel la signale comme étant la forme la plus dominante de l'ouest algérien. Cette espèce, présentée dans la figure I.5, est connue en Algérie sous le nom de crevette blanche. Offertes tout au long de l'année, les crevettes blanches sont surtout pêchées de novembre à janvier. *Parapenaeus longirostris* (Lucas, 1846) présente, en général, une coloration beige plus ou moins nacrée, le rostre est de couleur plus foncée, ainsi que les pattes, les articulations, des appendices et le telson.

**Systématique** (INPN, 2020):

La classification sommaire est la suivante :

**Règne :** Animalia

**Phylum :** Arthropoda

**Classe :** Malacostraca

**Ordre :** Decapoda

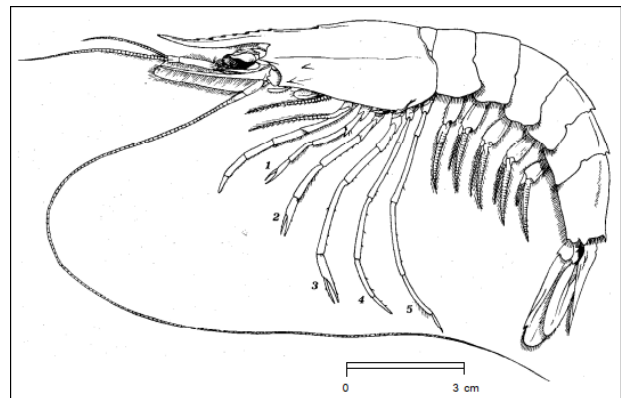
**Famille :** Penaeidae

**Genre :** *Parapenaeus*

**Espèce :** *Parapenaeus longirostris* (Lucas, 1846)

→ **Nom vernaculaire:** crevette rose du large.

**Biologie et habitat:** la crevette est de taille moyenne, elle est présente dans les eaux saumâtres des estuaires. Elle est démersale au-dessus des fonds vaseux ou sablo-vaseux, de 20 à 700 m, généralement de 70 à 400 m (individus âgés en profondeur). (NOUAR, 1985), après traitement des données de la campagne « Thalassa », a signalé la présence de *P. longirostris* dans tous les secteurs du littoral algérien, à une profondeur allant de 50 à 650 mètres.



**Figure I.5:** *Parapenaeus longirostris* (Lucas, 1846) (FISCHER, 1987)

**Reproduction:** Cette espèce présente un dimorphisme sexuel apparent ; Les mâles, avec une longueur totale de (8 à 14 cm), possèdent un pétasma avec deux projections distomédiales étroites, recourbées vers l'extérieur qui se termine par des pointes aiguës. Quant aux femelles, elles possèdent un Thélycum dans la partie abdominale antérieure en forme de triangle obtus et leur taille varie entre 12 et 16 cm (FISHER *et al.* 1987). Elles sont ovigères en mars, avril et juin. Comme toutes les crevettes Penaeidae, *P. longirostris* n'incube pas ses œufs, une fois fécondés, ils sont émis directement dans l'eau. En général, c'est un seul groupe d'ovocytes qui évolue jusqu'à la ponte (THIAM *et al.* 2015).

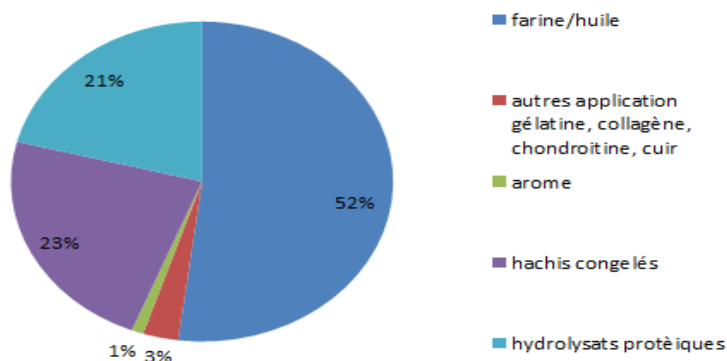
**Distribution géographique:** elle est présente dans toute la méditerranée, à l'exception des côtes françaises et de la mer Adriatique où elle est rare. Elle est aussi présente dans l'Atlantique est, de l'Angola au Portugal et dans l'Atlantique occidental, des Guyanes au Massachusetts (E.U.) (FISCHER, 1987).

#### **I.4. Les coproduits des crustacés, voies de valorisation et enjeux économiques**

##### **I.4.1. Notions de coproduits et de déchets**

Les coproduits appelés également sous-produits, sont tout ce qui est inconsommable par l'homme mais qui répondent à des spécifications définies qui leur permettent d'être valorisés et ainsi considérés comme des produits à part entière (selon l'ADEME). Ils proviennent des procédés traditionnels de transformation des produits de la mer le filetage, l'éviscération, l'étêtage, le pelage, le lavage, la décongélation ou la cuisson de produits bruts. Les coproduits représentent 30 à 60% de l'animal (IFREMER, 2010), et peuvent être valorisés sous différentes formes (farine, huile, arôme,...), comme le montre la figure I.6.

On parle de déchet lorsqu'aucune voie de valorisation n'existe et que le sous-produit doit être détruit (ANDRIEUX, 2004). Ainsi, et conformément aux dispositions de l'article numéro 3 de la loi n°01-19 du 27 Ramadhan 1422 correspondant au 12 décembre 2001 relative à la gestion, au contrôle et à l'élimination des déchets (voir JORA n°77), les déchets sont définis comme étant « tout résidu d'un processus de production, de transformation ou d'utilisation, toute substance, matériau, produit ou, plus généralement, tout objet meuble dont le détenteur se défait, projette de se défaire, ou dont il a l'obligation de se défaire ou de l'éliminer ».



**Figure I.6:** Proportion des différentes voies de valorisation des coproduits d'origine marine (ANDRIEUX, 2004)

#### I.4.2. Les coproduits de crevettes et de crabes

La consommation des crustacés dont font partie les crabes et les crevettes génère des sous-produits divers. Les coproduits de crevette sont essentiellement les carapaces provenant de queue, de têtes, des pattes, d'organes internes et d'œufs, qui sont récupérables après décorticage de la crevette. Les coproduits des crabes englobent les pattes, les pinces, la carapace, le céphalothorax, l'hépatopancréas, le liquide physiologique et d'autres petits organes internes. Ils représentent jusqu'à 60-80% d'un individu entier (OUELLET, 2015).

Il est important de les valoriser, étant donné qu'ils contiennent différentes molécules : protéines, lipides, minéraux, vitamines et d'autres composés bioactifs qui sont bénéfiques et que l'on peut mettre au profit de la santé humaine et animale (RANDRIAMAHATODY, 2011).

#### I.4.3. Enjeux économiques

La quantité de déchets résultants de la transformation des produits est devenue une préoccupation majeure surtout en ce qui concerne la préservation et la durabilité de l'environnement. Ceci amène à penser à des voies de valorisation afin d'éviter leur élimination dans la nature. Parmi ces déchets se trouvent ceux des crustacés (suite au décorticage, étêtage,...) et qui présentent de nombreux moyens de valorisation grâce à des composés (pigments, polysaccharides, peptides, minéraux...) qui peuvent être intéressants sur le plan économique grâce à des applications dans les industries alimentaire, pharmaceutique, cosmétique, etc. Ces déchets peuvent également générer des revenus excédentaires qui peuvent améliorer, de manière considérable, l'économie de la production et de la transformation des aliments (SAINI *et al.* 2018)

L'adoption d'une politique de valorisation permet de réduire l'impact sur l'environnement de l'industrie et diminuer les coûts engendrés par la pollution que les états font reposer sur les

entreprises par la mise en place de taxes dissuasives comme celle du pollueur-payeur (RESSEGUIER, 2016).

En général, les composés précieux qu'on peut acquérir à partir des coproduits de crevettes, présentent : 15% à 40% de chitine, 20% à 40% de protéines et 20% à 50% de minéraux. Les pigments, les lipides et autres sels métalliques se trouvent à des taux plus bas. Étant donné que ces coproduits sont à haute valeur ajoutée, la bioconversion de cette ressource facilement accessible et renouvelable a attiré beaucoup d'intérêt pour assurer une pêche durable et améliorer la rentabilité des activités de la filière (BRÜCK *et al.*, 2010)

Il existe aujourd'hui environ 70 sites de production de chitine à l'échelle industrielle dans le monde, implantés principalement au Japon et en Asie-Pacifique. Ils travaillent sur une matière première issue de crustacés et principalement de crevettes. Seuls trois sites (Chine, Allemagne et Japon) au monde produisent de la chitine de grade pharmaceutique certifié, niveau visé par SFly. Le marché mondial des dérivés de la chitine devrait atteindre 63 milliards de dollars en 2021 selon un rapport de Global Industry Analysts Inc. (chitin and chitosan derivatives market report – 2015). Parmi les marchés porteurs, celui du traitement de l'eau (30 % de la part de marché du chitosane en 2015). La demande croissante de produits dans les applications de traitement de l'eau en raison de sa biodégradabilité, de son caractère non toxique et de sa disponibilité permet de prévoir une augmentation importante de la taille du marché du chitosane d'ici 2024.

#### **I.4.4. Biomolécules dérivées des coproduits de crevettes et de crabes et domaines d'applications**

Les coproduits des crustacés sont une source précieuse de plusieurs molécules de haute valeur, ces biomolécules ont des applications dans différents domaines en diététique, nutraceutique, pharmaceutique et en cosmétique (JOHNSON, 2002).

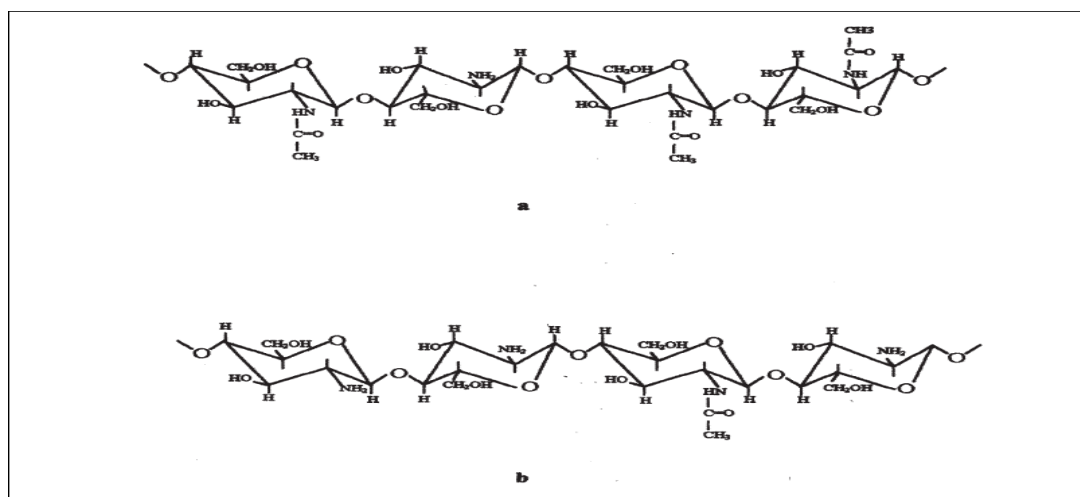
##### **I.4.4.1. Chitine, chitosane et dérivés**

La chitine et le chitosane sont des polymères naturels, connus comme des glycosaminoglycanes, ils sont abondants dans les carapaces des invertébrés marins, notamment les crustacés, qui sont la première source de chitosane (la chitine représente 30-40% de la carapace de la crevette et 15-30% de celle du crabe) (GANESAN *et al.* 2020).

La chitine est un polysaccharide linéaire naturel d'origine marine, sa structure chimique (figure 7 a) est composée d'un enchaînement d'unités de N-acétyl-D-glucosamine liée par des liaisons glycosidiques de type (1→4) (CRINI, 2009). Elle peut être considérée comme un dérivé de la cellulose dans laquelle le groupement C-2 hydroxyle est remplacé par des résidus acétamides

(FREEPONS, 1989). Elle est insoluble dans les solutions aqueuses et les solvants organiques, ce qui est dû à son fort degré de cristallinité (DI MARIO *et al.* 2008).

Une désacétylation partielle de la chitine dans un milieu basique, donne le chitosane qui est son dérivé principal. Le chitosane est un amino polysaccharide soluble dans un milieu acide à  $\text{pH} < 6$ , et insoluble dans les solutions aqueuses, les milieux alcalins ainsi que dans les solvants organiques (RABEA *et al.* 2003). Appartenant à la famille des glycosaminoglycanes, il possède un fort potentiel en raison de son caractère polycationique qui le distingue des autres polysaccharides et polymères naturels qui possèdent le caractère anionique. La structure chimique du chitosane (figure I.7 b) est un enchaînement de monomères  $\beta$ -D-glucosamines reliés par une liaison glycosidique (1 $\rightarrow$ 4) (CRINI, 2009). Il est caractérisé par son degré d'acétylation (DA) correspondant au nombre de groupements acétamide présents le long d'une chaîne (CAILLAU, 2017). Le terme chitosane est donné à tout copolymère dont le DA est inférieur à 50% (CRINI, 2009).



**Figure I.7:** Les structures chimiques, a chitine, b chitosane (THARANATHAN et KITTUR, 2003)

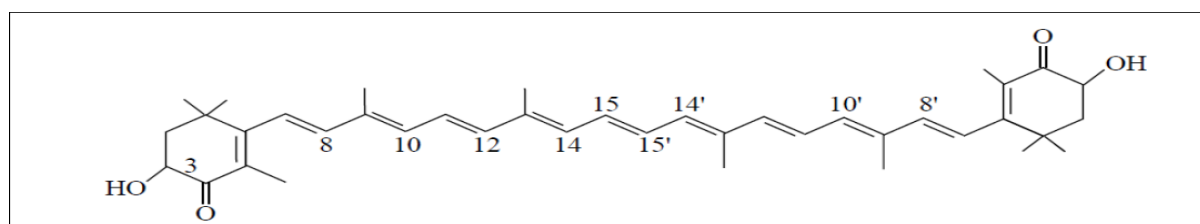
La chitine et le chitosane ont un grand intérêt en raison de leurs propriétés intrinsèques et de leurs différents domaines d'application comme le montre le tableau I.2 :

**Tableau I.2:** Applications industrielles de la chitine et du chitosane dans le domaine biomédical et pharmaceutique

Champs d'application	Applications
Médecine chirurgie plastique cancérologie biologie cellulaire  pharmacie  aliments nutraceutique	-accélération de la cicatrisation et de la guérison des blessures, anti-inflammatoire. -stimulation de la régénération des tissus. -matrice pour la régénération osseuse. -stimulation du système immunitaire, pansement, agent hémostatique, agent bactériostatique, agent antibactérien, agent antifongique, agent anti tumeur, anti infectieux. -matériel absorbable avec possibilité de contrôle de libération de principes actifs (relargage de médicament). -complément alimentaire. -diminution du taux de cholestérol, fixateur de graisses.

#### I.4.4.2. Astaxanthine

L'astaxanthine ( $C_{40}H_{52}O_4$ ) est un pigment de couleur rouge intense liposoluble prédominant de la famille des xanthophylles, appartient aux caroténoïdes oxygénés (CONG et ZHANG, 2019), contenue dans les coproduits des crustacés tels que les crabes et les crevettes et dans la chair de poissons de la famille des salmonidés (RANDRIAMAHATODY, 2011), ainsi que dans d'autres sources naturelles y compris les microalgues et les levures (SANGSURIYAWONG *et al.* 2019). Sa structure chimique (figure I.8) est composée de 13 doubles liaisons conjuguées alternées avec des liaisons simples, avec les groupes hydroxyles à chaque extrémité de la molécule (Z. LIU *et al.* 2020). Sa couleur est due à la chaîne étendue de doubles liaisons conjuguées au centre du composé (DALEI et SAHOO, 2015). L'astaxanthine se trouve lié avec des acides gras ou des protéines, afin de maintenir la molécule stable (Z. LIU *et al.* 2020).

**Figure I.8:** La structure chimique de l'astaxanthine (RANDRIAMAHATODY, 2011)

L'astaxanthine est présente dans les coproduits de crustacés à raison de 50 à 200 mg/ kg. Il constitue 63,5% et 92,2% des pigments caroténoïdes des coproduits de quelques espèces de

crevettes pénaïdes, respectivement sous forme native et avec les formes mono et di-esters lipidiques (SACHINDRA *et al.*2005).

Son extraction peut être faite de différentes techniques dont les plus courantes sont :

- La fermentation, notamment la fermentation lactique, qui semble plus intéressante pour le secteur de l'alimentation animale ;
- L'hydrolyse enzymatique, qui semble efficace pour des applications pour l'alimentation humaine ;
- L'extraction avec des huiles végétales, notamment l'huile de tournesol ;
- Les solvants organiques, notamment le mélange isopropanol/hexane qui a prouvé son efficacité avec une récupération de 60% de l'astaxanthine (RANDRIAMAHATODY, 2011).

L'astaxanthine possède des activités biologiques très importantes, c'est un puissant antioxydant (CONG et ZHANG, 2019), 10 fois plus que les autres caroténoïdes y compris le  $\beta$ -carotène et 500 fois plus puissante que celle de la vitamine E (OLAIZOLA, 2008). Cette capacité est due à la présence, dans sa structure, de double liaison conjuguée qui délocalise les électrons non appariés (SANGSURIYAWONG *et al.*2019). Ce pigment est potentiellement bénéfique contre de nombreuses maladies dont le cancer, les maladies cardiovasculaires, trouble du système immunitaire et inflammatoire, aussi il a une bio-activité contre l'*Helicobacter pylori* (HIGUERA-CIAPARA *et al.*2006). L'astaxanthine est utilisée dans l'élevage de poisson pour la croissance et la reproduction (HIGUERA-CIAPARA *et al.*2006), aussi comme source de complément alimentaire qui confère une pigmentation efficace de la chair de la truite arc-en-ciel (BREITENBACH *et al.*2016).

#### **I.4.4.3. Les peptides à activité antimicrobienne PAMs**

Les peptides à activité antimicrobienne sont des peptides natifs produits naturellement par l'organisme pour se défendre, ce sont des peptides de petite taille possédant 6 à 50 résidus d'acides aminés et dont le poids moléculaire est compris entre 1 et 5 kDa. Ils sont le plus souvent cationiques (RANDRIAMAHATODY, 2011) avec un caractère amphiphile, dû à une forte proportion d'acides aminés hydrophobes (DEFER *et al.*2009), selon différents modes d'action, ils agissent par perturbation des membranes cellulaires des agents pathogènes, provoquant au final leur destruction. Chez les organismes marins, tels que les crustacés les PAMs peuvent être divisés en 3 classes : les pénaïdines, les crustines et les post-peptides obtenus après hydrolyse enzymatique de protéines natives inactives (FLEURY *et al.*2008).

#### **I.4.4.4. Substances aromatiques**

L'extraction de substances aromatiques constitue une autre voie de valorisation des coproduits marins (RANDRIAMAHATODY, 2011). Les extraits et les arômes marins sont de plus en plus demandés dans le monde notamment en Asie (JOHNSON, 2002), ils sont utilisés dans les cuisines afin d'améliorer les goûts. il existe deux méthodes de fabrication cohabitantes: la première consiste à sécher la matière par cuisson puis à broyer le produit jusqu'à l'obtention d'une poudre peu soluble, et la deuxième consiste à mettre en contact la matière première et l'eau puis récupérer cette eau et la concentrée puis sécher les matières organiques dissoutes afin d'obtenir un extrait soluble (BALTI, 2011). Les substances aromatiques sont utilisées dans les soupes, les bouillons et les sauces (ARCHER et RUSSEL, 2008).

#### **I.4.4.5. Eléments minéraux et vitamines**

Les éléments minéraux et les vitamines sont des éléments essentiels pour l'organisme, en raison de leur rôle important, ils participent à différentes réactions enzymatiques, ainsi qu'à la formation de certains tissus.

Le calcium est présent dans le milieu marin sous forme de calcite ( $\text{CaCO}_3$ ) ou ion divalent ( $\text{Ca}^{2+}$ ). C'est un élément constitutif de l'exosquelette des crustacés ainsi que des arêtes et des squelettes de poissons ce qui fait d'eux une source potentielle de ce dernier. Toutefois, avant de l'ajouter aux aliments, il est important de le transformer afin de le rendre assimilable pour l'organisme. Et des travaux ont montré que pour cela il était possible d'effectuer un traitement à l'eau chaude ou à l'acide acétique chaud.

L'exosquelette de la crevette est constitué principalement du calcium, et d'autres minéraux tels que le phosphore, le cuivre, le sélénium, le magnésium, le fer et le zinc.

Quant aux vitamines, on peut citer la vitamine B12, qui aide à la fabrication de nouvelles cellules, et la vitamine B13, qui contribue à la production d'énergie. Ces vitamines sont présentes en quantité intéressante dans les crevettes (RANDRIAMAHATODY, 2011).

#### **I.4.4.6. Huiles riches en $\omega 3$ et $\omega 6$**

Les huiles de poissons occupent une place importante parmi les nutraceutiques en raison de leur richesse en acides gras insaturés tels que les oméga-3 et les oméga-6 (RANDRIAMAHATODY, 2011). Ces huiles sont obtenues essentiellement à partir des poissons entiers, mais afin de valoriser les coproduits de la mer, elles sont également extraites à partir des dérivés de poissons, de mollusques et de crustacés (JOHNSON, 2002). Il a été démontré que les acides gras de la

famille des oméga-3 contribuent à diminuer le taux de cholestérol et à améliorer la santé cardiovasculaire, aussi elles sont bénéfiques pour les personnes qui souffrent d'hyperactivité avec déficit de l'attention.

Une fois extraites, elles peuvent avoir des applications dans le domaine pharmaceutique, sous forme de capsules, ou alors dans le domaine de la nutraceutique en étant formulées dans des aliments fonctionnels (boissons,...), comme elles peuvent être utilisées comme lubrifiants dans les produits de dégraissage et les détergents pour les mains, ainsi que dans les cosmétiques (JOHNSON, 2002).

Les crevettes contiennent des acide gras insaturés de la famille des oméga-3 tels que l'acide eicosapentaénoïque (EPA) et de l'acide docosahexaénoïque (DHA) qui ont un rôle dans le maintien de la santé cardiovasculaire (KRIS-ETHERTON *et al.* 2002).

#### **I.4.4.7. Phosphatase alcaline**

La phosphatase alcaline est une enzyme thermosensible qui se trouve dans la plupart des tissus de l'organisme, chez les crustacés elle se localise dans les tissus mous de leurs carapaces. L'extraction de cette enzyme est réalisée en suivant plusieurs étapes dont la température est contrôlée (RANDRIAMAHATODY, 2011) Toutefois, l'extraction à partir des carapaces de crustacés au niveau des industries a été supplantée par la technologie de recombinaison (ARCHER et RUSSEL, 2008). La phosphatase alcaline peut avoir plusieurs rôles notamment dans la calcification, l'inhibition de la minéralisation et aussi dans la synthèse du collagène... (SALOMON, 1974).

#### **I.5. L'inflammation**

La réponse inflammatoire est une réponse adaptative engendrée en réponse à des stimuli nocifs telle qu'une infection ou une agression tissulaire. C'est un processus habituellement bénéfique qui permet à l'organisme d'éliminer tout agent pathogène, de réparer les lésions tissulaire, et de maintenir l'intégrité du soi, elle fait intervenir des cellules, des vaisseaux, des modifications de la matrice extracellulaire et de nombreux médiateurs chimiques tels que : les histamines, les sérotonines, les facteurs activateurs des plaquettes (PAF) et les cytokines. Ces derniers sont des acteurs importants dans le processus inflammatoire, ils augmentent la perméabilité vasculaire, attirent les leucocytes sur le lieu de l'inflammation, aussi, ils favorisent leur adhésion à l'endothélium et augmentent l'agrégation des plaquettes. L'inflammation est classée en deux catégories selon la durée et la cinétique du processus inflammatoires : une inflammation aigue (immédiate et à courte durée, quelques jours à quelques semaines), elle se termine par

l'élimination du stimulus nocif et par la réparation du tissu lésé, et une inflammation chronique (à longue durée, elle peut s'étalée sur des mois ou des années) (ASHLEY *et al.*2012).

## I.6. La cicatrisation

C'est un phénomène biologique qui est automatiquement et immédiatement mis en œuvre par l'organisme dès qu'il y a un dommage physique de quelque tissu que ce soit à l'exception des cellules nerveuses, elle aboutit à la reconstruction d'un tissu lésé. Elle se déroule en trois phases : la phase détersivo-inflammatoire, la phase proliférative avec la formation de tissu granulaire et en fin la phase de remodelage. Chaque étape est induite par la précédente et elle ne peut avoir lieu que si celle-ci est parfaitement achevée, ce qui souvent implique l'apoptose (BENSEGUENI *et al.*2007).

- La phase inflammatoire : elle est caractérisée par une vasodilatation, et elle fait intervenir des cellules inflammatoires telles que les polynucléaires neutrophiles qui vont libérer différentes enzymes protéolytiques, afin de détruire les résidus de l'ancienne matrice extracellulaire, mais aussi des monocytes qui vont se différencier en macrophages et éliminer les différents agents pathogènes présents dans la plaie.  
A la fin de cette phase, la zone cicatricielle est dépourvue de tout agent infectieux et de débris cellulaires (KOECHLER, 2015).
- La phase de prolifération : au cours de laquelle se forme le tissu de granulation. Elle se déroule en trois stades. D'abord une prolifération des fibroblastes qui vont migrer des extrémités de la plaie vers le centre. Par la suite, ces fibroblastes vont synthétiser une nouvelle matrice extracellulaire. Et enfin, une néoangiogenèse se met en place afin de revasculariser la zone cicatricielle (KOECHLER, 2015).
- La phase de remodelage : il s'agit de la phase la plus longue étant donné qu'elle peut durer jusqu'à deux ans. Durant celle-ci, la matrice extracellulaire est progressivement remodelée, et cela afin d'avoir un tissu avec une structure et une fonction aussi proche que possible du tissu originel (KOECHLER, 2015).

## **Chapitre II : Matériel et méthodes**

## II.1. Matériel

### II.1.1. Matériel biologique

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

- Carapaces des crustacés : crabes et crevettes.
- BSA (sérum albumine bovine).
- Souris BALB/c.
- Rats Wistar.
- Germes pathogènes : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* (streptocoques fécaux) et *Aspergillus sp.*

### II.1.2. Matériel non biologique

Les différents appareils et réactifs utilisés sont mentionnés dans le **tableau II.1** ci-dessous :

**Tableau II.1:** Matériel et réactifs utilisés

Appareillages	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> <li>– Séchoir à ventilation (La Parmigiana).</li> <li>– Mixeur.</li> <li>– Balance de précision (Shimadzu AUW 220 D Uni Bloc).</li> <li>– Creusets.</li> <li>– Etuve (memmert).</li> <li>– Four à moufle (wise therm).</li> <li>– XRF (Thermo Fisher Scientific Niton XL3t gold+).</li> <li>– Lecteur Automatique de Microplaque ELx808™.</li> <li>– Dessiccateur.</li> <li>– pH mètre.</li> <li>– Agitateur magnétique (KiKa Werke TopMix FB15024)</li> <li>– Appareil de Soxhlet (huber minichiller).</li> <li>– Evaporateur rotatif (Ika HB10).</li> <li>– Spectrophotomètre UV-Visible (Shimadzu UV-1800).</li> <li>– Colonne de chromatographie.</li> <li>– Chauffe ballon (Benstead Electrothermal).</li> <li>– FTIR.</li> <li>– Bec bunsen.</li> <li>– Maillet, ciseaux, Poinçon.</li> <li>– Becher, éprouvette, micropipettes, écouvillon, pipettes Pasteur.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Réactif de Bradford.</li> <li>– Ether diéthylique.</li> <li>– Acétone.</li> <li>– Hexane.</li> <li>– Méthanol.</li> <li>– Solution saline.</li> <li>– Sulfate de sodium.</li> <li>– Cyclohexane.</li> <li>– Ether de pétrole.</li> <li>– Eau distillée.</li> <li>– Ethanol.</li> <li>– HCl.</li> <li>– NaOH.</li> <li>– Acide acétique.</li> <li>– DPPH.</li> <li>– Xylène.</li> <li>– Glucose</li> <li>– Gel de silice</li> </ul>

## II.2. Échantillonnage

### II.2.1. Collecte de la matière première et identification des espèces de crabes et de crevettes

La collecte des échantillons a été faite en Février 2020.

Les coproduits des crevettes utilisés ont été récoltés aux niveaux de la pêcherie d'Alger centre; et le port de El Djamila (la madrague) à l'ouest de la commune d'Ain Benian. C'est deux sites d'échantillonnage font partie de la baie d'Alger.

Quant aux crabes, ils sont issus de la pêche accessoire, ils ont été collectés au niveau du port de Cherchell (baie de Bou Ismail) à 93 km à l'ouest d'Alger.

L'identification a été faite en se basant sur les fiches FAO (Fischer,1987) , et avec l'aide du Dr. REFES W. au niveau du laboratoire de l'ENSSMAL à Sidi Fredj.

### II.2.2. Prétraitement des carapaces de crustacées

Les coproduits des crustacés (crabe et crevette) récoltés ont été rincés avec de l'eau de robinet afin d'éliminer toutes traces de sable, du sang et des épiphytes. Par la suite, ils ont été séchés au niveau du CNRDPA à l'aide d'un séchoir ventilé, à 37°C pendant 24h (figure II.1) ; et ils ont été broyés finement à l'aide d'un mixeur, jusqu'à l'obtention d'une poudre.



**Figure II.1:** Séchage des échantillons

### II.3. Détermination de la composition biochimique globale des coproduits des crustacés

La détermination de la composition biochimique globale, du mélange des coproduits des deux espèces de crevettes *Parapenaeus longirostris* et *Aristeus antennatus* et des coproduits de crabes *Liocarcinus depurator*, a été réalisée au niveau de laboratoire de biochimie à l'ENSSMAL.

#### II.3.1. Détermination de la teneur en eau

En utilisant la méthode référentielle (AOAC, 1980), la teneur en eau est obtenue par le calcul de la perte de masse, suite au séchage de l'échantillon à analyser dans une étuve à 105°C pendant 24h afin d'éliminer toute trace d'eau en préservant la matière organique. Le résultat est exprimé en pourcentage.

##### Mode opératoire:

- Peser les creusets vides, et noter leurs poids  $M_0$ ;
- Tarer ces poids, puis peser 2 g de chaque échantillons secs;
- Peser l'ensemble creuset + échantillon  $M_1$ ;
- Mettre les échantillons dans l'étuve à 105°C jusqu'à stabilisation du poids de chaque échantillon (environ 24h);
- Retirer les creusets, enlever le couvercle et laisser refroidir dans le dessiccateur, puis noter le poids final des échantillons secs  $M_2$ ;
- La teneur en eau est calculée par de la formule suivante:

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

Avec:

$M_0$ : poids du creuset vide;

$M_1$ : poids du creuset avec l'échantillon avant étuvage à 105°C;

$M_2$ : poids du creuset avec l'échantillon après étuvage.

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

##### II.3.2.1. Détermination de la teneur totale en matière minérale

Les cendres ont été déterminées par une méthode référentielle à partir des échantillons secs préalablement étuvés à 105°C pendant 24h. Cette méthode est basée sur l'incinération des échantillons dans un four à moufle à 600°C pendant 4h (AOAC, 1999) (figure II.2), jusqu'à l'obtention de cendres blanches.

##### Mode opératoire:

- Peser les creusets en porcelaine vides.

- Peser 2 g de carapaces de crustacés (crabes et crevettes) séchées à l'air libre puis à l'étuve)
- Placer les creusets dans le four à moufle à 600°C pendant 4 heures. (Figure II.2)
- Retirer les creusets (annexe 01) et les placer dans un dessiccateur.
- Peser les creusets pour déterminer la masse des cendres (matière minérale) après avoir été refroidis dans un dessiccateur;



**Figure II.2:** Incinération dans le four à moufle

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

$$C\% = \left( \frac{M_2 - M_0}{M_1 - M_0} \right) \times 100$$

Avec :

$M_0$ : poids du creuset vide;

$M_1$ : poids du creuset avec l'échantillon sec avant incinération;

$M_2$ : poids du creuset avec l'échantillon après incinération à 600°C.

### **II.3.2.2. Détermination de la composition et la concentration des matières minérales par spectrométrie de fluorescence X (XRF)**

#### **Principe de la XRF (X-ray fluorescence) ou spectrométrie de fluorescence des rayons X :**

c'est une technique rapide et facile à utiliser. La spectroscopie par fluorescence de rayons X est une technique analytique de spectroscopie atomique qui implique le bombardement des échantillons avec un rayonnement primaire, lors de cette interaction, le rayonnement primaire excite les électrons dans les coquilles internes des atomes et provoque une perte d'électrons dans la coquille. Les électrons comblent alors cette lacune dans les coquilles d'énergie inférieure en émettant des photons à une longueur d'onde précise. La fluorescence résultante peut être utilisée

pour déterminer les éléments présents dans l'échantillon. Seuls les éléments les plus abondants seront au-dessus de la limite de détection de l'appareil (DOBRIJEVIC *et al.* 2020).

**Mode opératoire :**

Un appareil XRF Niton® XL3t de type pistolet équipé d'un tube à rayons X a été utilisé. L'échantillon solide de fine granulométrie est placé dans une coupelle à bague de 32 mm de diamètre, il est ensuite recouvert d'un film en Mylar à travers lequel il est analysé. Le lancement des analyses peut alors être piloté depuis l'ordinateur.

**II.3.3. Détermination de la teneur en protéines totales**

La détermination de la teneur en protéines totales est effectuée par la méthode de Bradford (micro-méthode)

**Le principe de la méthode de Bradford :**

La méthode de Bradford est utilisée pour mesurer la concentration de protéines totales dans un échantillon, elle repose sur l'utilisation de bleu de Coomassie dans un milieu acide, ce colorant se lie avec les acides aminés basiques l'arginine, la lysine et l'histidine, contenues dans les protéines par des liaisons ioniques en formant un complexe protéine-colorant ce qui entraîne un changement de couleur du brun au bleu.

Le bleu de Coomassie absorbe à la longueur d'onde 465nm, et quand il se lie avec les acides aminés basiques la liaison entraîne un déplacement du pic d'absorption de 465nm à 595nm (BRADFORD, 1976).

**Mode opératoire :**

La protéine de référence : BSA (Sérum Albumine Bovine)

- Préparer une solution de 10mg BSA dans 10ml d'eau distillée, qui sert à préparer la gamme étalon ;
- Mettre un volume de 10µl de la gamme ainsi que de l'échantillon dans la microplaque Elx808™, et y ajouter 200µl du réactif de Bradford, puis incubé à une température ambiante pendant 5 à 45min.
- Faire une lecture spectrale automatique dans la longueur d'onde 595nm.
- L'équation  $DO = f(BSA)$  (Annexe 02).

**II.3.4. Détermination de la teneur en lipides totaux**

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

### Principe de la méthode de Soxhlet:

L'échantillon est placé dans une capsule de cellulose, l'extraction se fait en continu par l'éther diéthylique en ébullition (35°C) qui dissout graduellement la matière grasse. Le solvant contenant la matière grasse retourne dans le ballon par déversements successifs causés par un effet de siphon dans le coude latéral. Comme seul le solvant peut s'évaporer de nouveau, la matière grasse s'accumule dans le ballon jusqu'à ce que l'extraction soit complète. Une fois l'extraction terminée, l'éther diéthylique est évaporé sur un évaporateur rotatif. La matière grasse est récupérée dans le ballon séché qui est pesé (EL HOUDA, 2017).

Les capsules de cellulose sont perméables au solvant et à la matière grasse qui est dissoute.

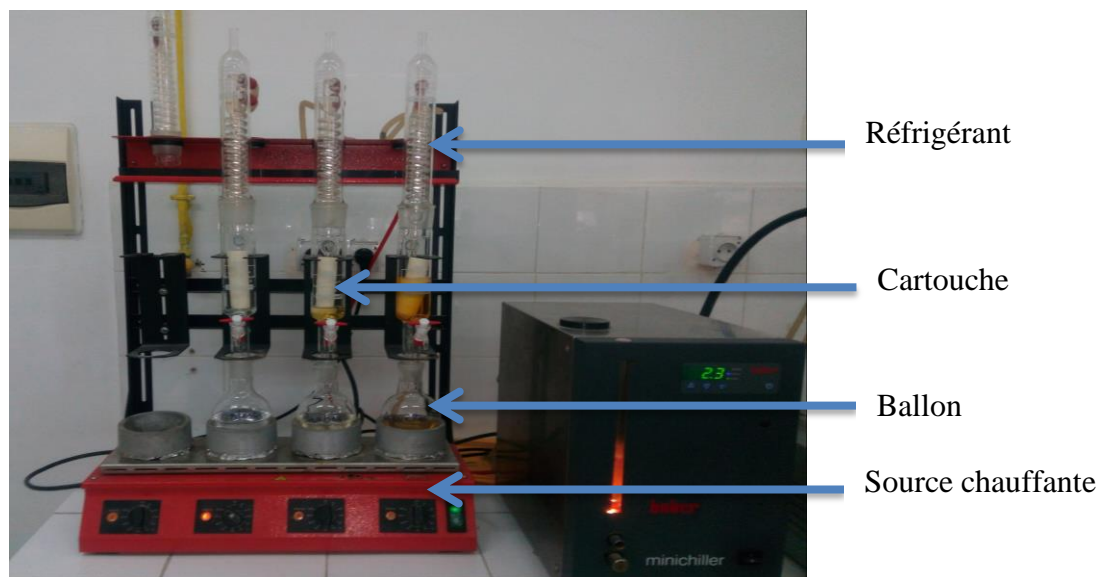


Figure II.3: Dispositif de Soxhlet

### Mode opératoire:

- Allumer le réfrigérant de l'appareil à 2°C;
- Peser 2g de carapace sèche (m).
- Placer ces 2g dans un mortier et broyer finement.
- Mettre l'échantillon dans la cartouche.
- Peser le ballon vide et noter son poids  $P_0$ .
- Prévoir un blanc qui contient uniquement le solvant (pour assurer la qualité du solvant).
- Déposer la cartouche qui contient l'échantillon dans le macra (extracteur de Soxhlet) (figure II.3).
- Mettre le ballon sur la plaque chauffante;
- Verser 160 ml d'éther diéthylique dans la cartouche qui contient l'échantillon.

- Allumer à une température de 100°C jusqu'à l'ébullition;
- Réduire la température à 60°C de sorte à maintenir l'ébullition stable;
- Faire marcher l'appareil à plusieurs cycles pendant 4h
- Retirer le ballon contenant le solvant et le placer dans l'évaporateur rotatif (60°C) pour l'évaporation complète et la concentration des lipides (Annexe 03);
- Retirer le ballon sec (Annexe 01), attendre que ça refroidisse et peser P<sub>1</sub>.

Le taux des lipides est calculé selon la formule suivante:

$$L \% = \left( \frac{P_1 - P_0}{m} \right) \times 100$$

Avec :

P<sub>0</sub>: poids du ballon vide ;

P<sub>1</sub>: poids du ballon qui contient l'échantillon après la passage par le rota vapeur.

P<sub>1</sub>-P<sub>0</sub>: la masse des lipides

m: le poids de l'échantillon (2g).

## II.4. Extraction et caractérisation des pigments à partir des coproduits des crustacés

### II.4.1. Préparation de l'extrait brut

Deux protocoles ont été suivis afin d'extraire les pigments. Le premier en utilisant de l'acétone et de l'hexane (SOWMYA et SACHINDRA, 2012), et le second en utilisant du méthanol (DALEI et SAHOO, 2015).

#### Premier protocole :

- Homogénéiser les carapaces à l'aide d'un mixeur;
- Mélanger 100g d'homogénat de carapaces avec 100 ml d'acétone puis filtrer;
- Récupérer les résidus et refaire l'opération jusqu'à éclaircissement total du filtrat;
- Réunir tous les extraits;
- Séparer les phases (extraction liquide-liquide) avec de l'hexane en quantité égale;
- Laver l'extrait d'hexane avec une quantité égale de solution saline 0,1%, pour enlever toute trace d'acétone;
- Déshydrater l'extrait avec 25g de sulfate de sodium;
- Filtrer et évaporer sous vide à 40°C;

- Concentrer sous jet d'azote pour obtenir l'extrait brut, et conserver à l'abri de la lumière.

### Deuxième protocole:

- Peser 10g de carapaces sèches et y ajouter 100 ml de méthanol;
- Laisser macérer le mélange pendant 1h sous agitation magnétique;
- Filtrer le mélange dans un récipient,
- Récupérer les résidus et refaire l'opération jusqu'à blanchiment des carapaces;
- Réunir tous les filtrats ensemble, et évaporer par un évaporateur rotatif.

### II.4.2. Calcul du rendement d'extraction des pigments

Le rendement d'extraction est calculé par la formule suivante: (SOWMYA et SACHINDRA, 2012).

$$\text{Rendement } (\mu\text{g/g}) = \frac{A_{468\text{nm}} \times V_{\text{extrait}} \times \text{facteur de dilution}}{0,2 \times W_{\text{échantillon}}}$$

Avec:

A : absorbance de la fraction à 468 nm ;

V: volume de l'extrait ;

0,2 : Absorbance à 468 nm de 1µg/ml d'astaxanthine standard;

W : poids de l'échantillon d'extraction en g.

### II.4.3. Séparation et identification des pigments

#### II.4.3.1. Analyse chromatographique sur colonne d'adsorption de gel de silice

**Principe :** La première chromatographie d'adsorption a été réalisée est par Tswett en 1906 ; ce fut sur de la craie pour séparer les pigments des végétaux.

Ce mode de chromatographie met en jeu un mécanisme d'adsorption du soluté sur la phase stationnaire solide et un mécanisme d'élution (désorption) par la phase mobile liquide (éluant).

L'adsorption est la fixation plus ou moins énergétique d'un soluté sur une surface solide; elle met en jeu des liaisons à faible énergie (liaisons hydrogène, interactions électrostatiques...). Pour être utilisable à des fins séparatives, l'adsorption doit être réversible.

L'élution ou désorption consiste à extraire le soluté adsorbé à l'aide d'un solvant appelé éluant.

- Les différents solutés sont plus ou moins adsorbés sur la phase stationnaire, et plus ou moins solubles dans la phase mobile; il en résulte une migration différentielle des solutés en fonction de

la résultante entre les deux forces (de rétention et d'entraînement) et donc une séparation de ces solutés (KONÉ, 2018).

**Mode opératoire:**

- Préparer la colonne avec le gel de silice G (60-120 mesh) qui servira de support à la phase fixe liquide;
- Préparer 100ml d'éluant (hexane)
- Placer du coton cardé au fond d'une burette de 25ml (30 cm de hauteur et 02.5 cm de diamètre) ;
- Recouvrir le coton de 0,5 cm de sable de Fontainebleaux et déposer quelques millilitres d'éluant afin de chasser l'air enfermé dans le coton ;
- Dans un bécher, peser 12g de silice sèche d'une granulométrie comprise entre 0,063 et 0,200mm et ajouter 25ml d'éluant. Agiter afin d'obtenir un gel ;
- Verser ce gel dans la burette et rajouter de l'éluant si le gel se solidifie. « Tapoter » légèrement la colonne afin de chasser les éventuelles bulles d'airs et de tasser la colonne ;
- Déposer une seconde couche de 0,5cm d'épaisseur de sable de Fontainebleaux afin de garder le haut de la colonne de silice toujours plat lors des dépôts d'échantillon et d'éluant ;
- Une fois que la colonne est tassée, jeter le surplus d'éluant de la colonne afin que son niveau arrive au ras du sable ;
- Travailler à l'obscurité pour éviter l'oxydation des pigments. Le suivi de l'élution de chaque pigment se fait visuellement en suivant la séparation de chaque couleur lors des différentes éluions ;
- Dissoudre l'extrait brut dans l'hexane et le déposer délicatement sur le gel dans la colonne ;
- Séparer les trois fractions contenues dans le mélange, en utilisant à chaque fois des éluants à des proportions différentes:
  - 100% hexane → F1: fraction d'hexane;
  - (92:8) hexane; acétone → F2: esters d'astaxanthine;
  - (80:20) hexane; acétone → F3: fraction d'astaxanthine.

-Les trois fractions obtenues sont concentrées dans un évaporateur rotatif et par la suite sous jet d'azote et conservées à -20°C jusqu'à utilisation.

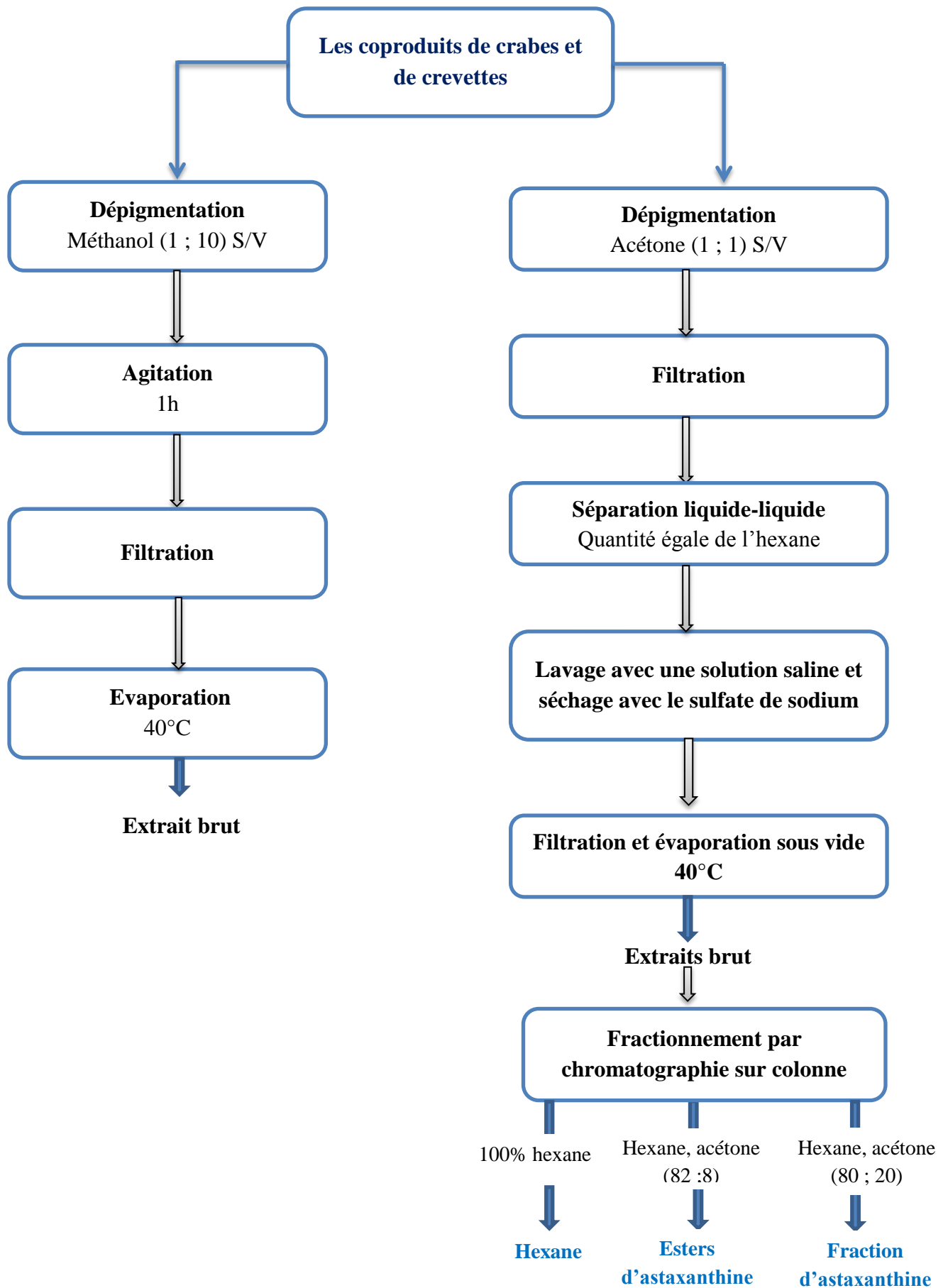


Figure II.4: Diagrammes d'extraction des pigments caroténoïdes

### II.4.3.2. Analyse spectrophotométrique

**Principe :** C'est une méthode basée sur la loi de Beer-Lambert qui montre une relation proportionnelle entre l'absorbance et la concentration. Elle permet également de déterminer l'absorption d'une solution pour une longueur d'onde donnée ou pour une plage de longueurs d'ondes judicieusement choisie (MASSON, 2016). Les différentes fractions de pigment obtenus ont fait l'objet d'une analyse au spectrophotomètre UV-visible avec un balayage de spectre de 400 nm à 550 nm, afin de déterminer l'absorbance maximale de chaque fraction  $A=f(\lambda)$  (PHAN, 2014).

#### **Mode opératoire:**

- Allumer le spectrophotomètre (Annexe 03);
- Placer le blanc qui contient le solvant;
- Placer les échantillons l'un après l'autre, et enregistrer les spectres d'absorption obtenus pour chacun d'eux.

### II.4.3.3. Analyse chromatographique sur couche mince

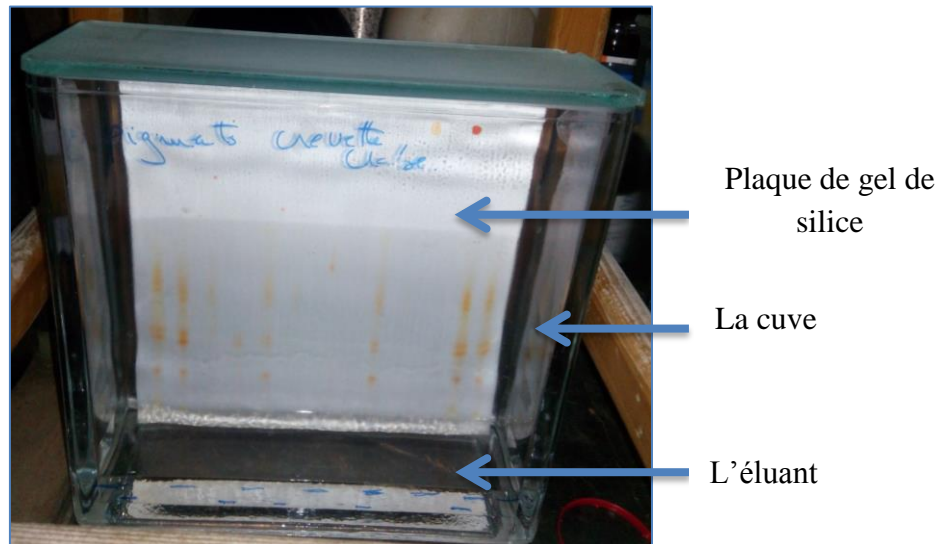
La chromatographie sur couche mince est une technique de séparation et d'analyse des mélanges homogènes.

#### **Principe :**

C'est une technique qui permet de séparer des substances présentes dans un mélange dans un but d'analyse, elle est basée sur la migration d'un liquide (solvant) sur un support (la plaque de silice) qui représente la phase solide (PHAN, 2014). Les pigments sont entraînés avec le solvant par capillarité, les pigments les plus solubles dans la phase mobile (qui ont une affinité avec le solvant) vont migrer plus ou moins loin, par contre les pigments qui ont une affinité avec la phase stationnaire la migration sera faible.

#### **Mode opératoire:**

- Prendre une plaque de silice préalablement activée dans l'étuve à 37°C pendant 15min, et tracer dessus la ligne et les points de dépôts;
- Déposer quelques gouttes des échantillons (extraits bruts, F2 et F3) sur les points prévus;
- Placer la plaque dans une cuve contenant la phase mobile constituée d'éther de pétrole, d'acétone et de cyclohexane en proportions (85:10:5) respectivement, et laisser migrer pendant environ 15 min (figure II.5).



**Figure II.5:** Chromatographie sur couche mince

## II.5. Extraction de la chitine et du chitosane

La chitine peut être extraite à partir des carapaces de crustacés (crabes et crevettes) par deux méthodes, biologique par l'utilisation des enzymes, ou chimique qui consiste en un traitement acide pour la déminéralisation et un traitement alcalin pour la déprotéinisation (Y. LIU *et al.* 2020), dans ce travail le protocole choisi est basé sur l'extraction chimique suivant les travaux de TRUONG *et al.* (2007).

### II.5.1. Préparation des échantillons de crabes et de crevettes

### II.5.2. Dépigmentation, délipidation

La dépigmentation et délipidation permet d'éliminer toutes sortes de pigments et des lipides présents dans les carapaces. Cette étape a été faite avec un mélange acétone/éthanol, en procédant à plusieurs lavages jusqu'à éclaircissement des carapaces.

### II.5.3. Déminéralisation

La déminéralisation est généralement réalisée par un traitement acide pour éliminer les minéraux (carbonate de calcium et le chlorure de calcium) (CAILLAU, 2017), qui passent en solution sous forme de sels. Le traitement acide est fait par une solution d'HCl 2M, Soluté/volume (1/10), avec une agitation et un chauffage à 50°C pendant 2h30min. Puis, une filtration et un lavage ont été réalisés avec de l'eau distillée jusqu'à neutralisation du pH.

#### II.5.4. Déprotéinisation et désacétylation de la chitine

La déprotéinisation et la désacétylation sont réalisées par un traitement basique, en utilisant une solution caustique : l'hydroxyde de sodium (NaOH) 12.5N, Soluté/volume (1/10), avec une agitation et un chauffage à 110°C pendant 3h. Puis, une filtration et un lavage ont été réalisés avec de l'eau distillée jusqu'à neutralisation du pH (EATON *et al.*2008).

#### II.5.5. Rendement du massique du chitosane

L'élimination des groupes acétyles de la chitine permet d'obtenir le chitosane. Le rendement massique est calculé en utilisant la formule mentionnée par (LE ROUX, 2012) :

$$Ym\% = \frac{M_f}{M_i} \times 100$$

Avec :

$M_i$  : la masse initiale en g ;

$M_f$  : la masse finale en g.

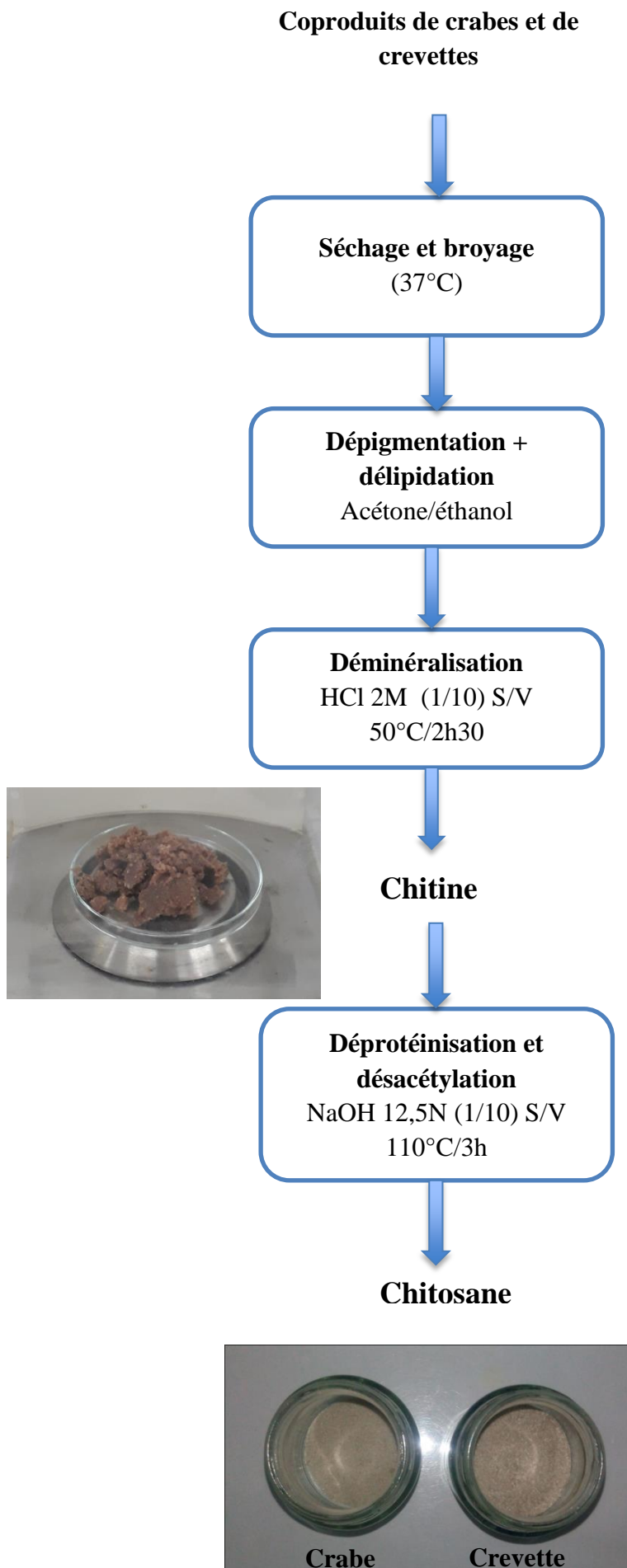


Figure II.6: Diagramme d'extraction du chitosane

## II.6. Caractérisation du chitosane produit

### II.6.1. Test de solubilité

Dissoudre 0.1g du chitosane en poudre dans 10 ml d'une solution d'acide acétique (1%), sous agitation constante pendant une nuit à température ambiante jusqu'à sa solubilisation (FERNANDEZ-KIM, 2004).

La chitine est insoluble dans l'acide acétique 1% car elle ne peut pas être protonisée à cause de l'absence de groupement amine et/ou un faible degré de désacétylation, en revanche le chitosane est complètement soluble dans l'acide acétique 1% et cela est due au groupement amine qui se protonise.

### II.6.2. Calcul du degré de déprotéinisation

Le degré de déprotéinisation permet d'évaluer l'efficacité du traitement de déprotéinisation. Il est calculé par la formule suivante (RAO *et al.*2000)

$$DP = \frac{(P_0 M_0) - (Pr Mr)}{(P_0 M_0)} \times 100$$

Avec: M0 et Mr sont les masses initiale et résiduelle du produit hydrolysé ;

P0 et Pr sont les pourcentages de protéines dans le produit initial et résiduel respectivement. La teneur en protéines est déterminée par la micro méthode de Bradford décrite précédemment.

### II.6.3. Calcul du degré de déminéralisation

Le degré de déminéralisation est calculé par la formule suivante (RAO *et al.*2000) :

$$DM = \frac{(A_0 M_0) - (Ar Mr)}{(A_0 M_0)} \times 100$$

Avec: Mo et Mr sont les masses initiale et résiduelle du produit hydrolysé,

Ao et Ar les pourcentages de cendres dans le produit initial et résiduel respectivement. Ces taux sont estimés par la méthode AOAC (1990) décrite ci-dessus.

### II.6.4. Calcul du degré de désacétylation

#### II.6.4.1. Dosage potentiométrique

Le DA présente le taux de groupe acétylé par rapport au groupe non acétylé (OULHIZ, 2018). La détermination du DA par dosage pH-métrique s'effectue selon la méthode de BROUSSIGNAC (1968) et TOLAIMATE *et al.*(2000).

- Prendre (0,1g) de l'échantillon (poudre de chitosane) et déposer dans un bécher;
- Ajouter un volume de 25 ml de solution de HCl (0,06N);
- Poser le mélange sous agitation à température ambiante durant une heure, ensuite ajuster avec l'eau distillée à 50ml ;
- Titrer avec la solution NaOH (0,1) jusqu'à un pH=3,75;
- Prendre le premier volume  $V_1$ , il faut continuer à titrer jusqu'à un pH de 8 et mentionner le deuxième volume  $V_2$ .

Le degré d'acétylation est calculé par la formule suivante de CZECHOWSKA-BISKUP *et al.*(2012)

$$DA = 2.03 \times \frac{V_2 - V_1}{m + 0.0042 (V_2 - V_1)}$$

Avec: m est la masse du chitosane (0.1 g) ;

$V_1$  et  $V_2$  : volumes équivalents de NaOH (à déterminer graphiquement) ;

2.03 : coefficient résultant de la différence entre la masse moléculaire du monomère acétylé et la masse moléculaire du monomère désacétylé ;

0,0042 : coefficient résultant de la différence entre les poids moléculaires des unités monomères de la chitine et du chitosane.

Le degré de désacétylation est le suivant :

$$DDA(\%) = 100 - DA (\%) \quad \text{avec: DA: degré d'acétylation.}$$

#### II.6.4.2. FTIR (Spectroscopie infrarouge à transformation de Fourier FTIR)

Ce test a été utilisé afin de caractériser la structure du chitosane extrait et de déterminer son degré de désacétylation, il a été réalisé au niveau du CRNA.

**Principe de la FTIR** : La spectroscopie infrarouge par transformée de Fourier est une technique d'analyse qui permet d'identifier la présence de groupements chimiques spécifiques. Elle est liée aux propriétés de vibration des liaisons interatomiques. Elle consiste à irradier l'échantillon par

un rayonnement infrarouge. Quand la fréquence du rayonnement correspond à une fréquence de vibration des molécules exposées, il se produit un phénomène d'absorption. Ceci se traduit par un pic d'absorption sur le spectre en absorbance (MECHEDDOU et BARR, 2018).

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

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

$A_{1320}$ : l'absorbance au nombre d'onde  $1320\text{cm}^{-1}$ ,  $A_{1420}$ : l'absorbance au nombre d'onde  $1420\text{cm}^{-1}$ .

## II.7. Détermination des propriétés pharmacologiques des extraits (pigments et chitosane)

L'étude des propriétés pharmacologique des extraits (pigments et chitosane) a été effectuée au niveau de l'ANPP, sauf l'activité anti microbienne qui a été réalisée au niveau de l'ENSSMAL.

### II.7.1. Activité antimicrobienne des pigments

L'étude de l'activité antimicrobienne des pigments a été réalisée par la méthode de puits de diffusion sur gel, cette activité a été testée sur les germes pathogènes, d'origine marine, présentés dans le **tableau II.2** ci-dessous:

**Tableau II.2:** Les germes recherchés et les milieux utilisés

Germes	Les milieux de culture
<i>Escherichia coli</i>	Muller Hinton
Streptocoques fécaux	Muller Hinton + Enterococcus
<i>Staphylococcus aureus</i>	Muller Hinton
<i>Aspergillus</i>	Sabouraud

#### Mode opératoire :

- Un écouvillon stérile est plongé dans une suspension bactérienne (0.3 McF), préalablement revivifiée, puis retiré en l'essorant contre les parois du tube ;
- L'écouvillon est étalé sur toute la surface de la gélose en tournant la boîte trois fois de  $60^\circ$  afin d'assurer une bonne distribution de l'inoculum ;
- Des puits de 6mm sont ensuite creusés dans la gélose stérilement à l'aide d'une pipette Pasteur, et remplis avec 100 $\mu$ l de l'extrait à tester ;

- Les boîtes préparées sont laissées un moment sur la paillasse afin de permettre la diffusion du composé antimicrobien, puis incubées à la température adéquate de croissance (37°C pour *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et les streptocoques fécaux et 25°C pour *Aspergillus*) pendant 24 à 48h;
- La lecture se fait par mesure du diamètre des zones d'inhibition formées autour des puits. L'inhibition est notée positive si le diamètre est supérieur à 2mm (THOMPSON *et al.*1996).

**Remarque :** Les essais ont été effectués en duplicata.

## II.7.2. Détermination de l'activité anti-inflammatoire *in vivo* des extraits de chitosane de crabe et de crevette

### Préparation des solutions mères :

-chitosane solubilisé : 0.1g du chitosane auquel on a ajouté 50 µl d'acide acétique et 10 ml d'eau (solution à 1%).

-chitosane brut : 0.1g du chitosane auquel on a ajouté 10 ml d'huile de tournesol.

### Activité anti-inflammatoire *in vivo*

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire du chitosane a été faite *in vivo* sur des lots de 10 souris de souche BALB/c mâles (dont le poids est de 20g ±2).

Une inflammation cutanée est induite sur la face interne de l'oreille gauche de chaque souris par l'application de 30µl de xylène à 96% (figure II.7 a). Une heure avant cette induction, chaque lot reçoit :

- Lot1 (témoin négatif) : 100µl d'eau physiologique ;
- Lot2 (témoin positif) : 100µl de Diclofénac à 1% ;
- Lot3 (placebo1) : 100µl d'huile de tournesol ;
- Lot4 (essai1) : 100µl de solution du chitosane brut de crevette ;
- Lot5 (essai1) : 100µl de solution du chitosane brut de crabe ;
- Lot6 (placebo2) : 100µl de solution d'acide acétique ;
- Lot7 (essai2) : 100µl de solution du chitosane solubilisé de crevette ;
- Lot8 (essai2) : 100µl de solution du chitosane solubilisé de crabe.

Quatre heures après l'induction de l'inflammation, les souris sont sacrifiées dans un bain d'éther, les oreilles sont coupées et des disques d'environ 6mm de diamètre sont prélevés puis pesés et comparés (figure II.7 b,c,d,e).

L'activité est évaluée en comparant les poids de l'oreille gauche (contenant l'œdème) et l'oreille droite (saine), et le potentiel anti-inflammatoire des échantillons testés est déterminé par le pourcentage d'inhibition d'œdème PIO.

La formule utilisée pour le calcul du PIO est la suivante: (MEZITI, 2018)

$$PIO = \frac{MD(\text{témoin négatif}) - MD(\text{essai})}{MD(\text{témoin négatif})} \times 100$$

Avec :

MD (témoin négatif) : la moyenne des différences entre les deux oreilles du lot de témoin négatif.

MD (essai) : la moyenne des différences entre les deux oreilles du lot essai.

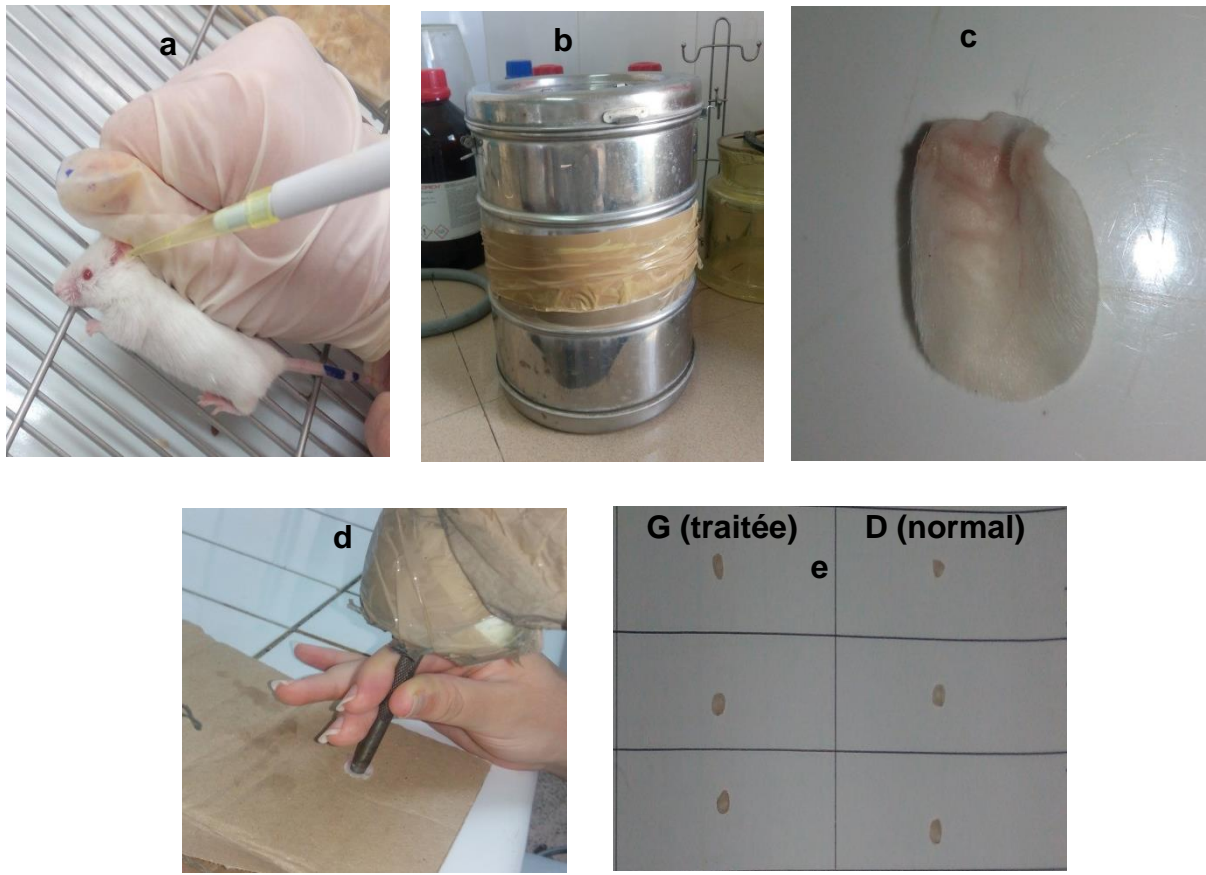
### **Étude statistique :**

Les résultats sont évalués à l'aide d'une analyse statistique (test de Student) en utilisant le logiciel EXCEL.

Le test T ou test de Student est un test statistique permettant de comparer les moyennes de deux groupes d'échantillons. Il s'agit donc de savoir si les moyennes des deux groupes sont significativement différentes au point de vue statistique. L'emploi de ce test reste subordonné en général à deux conditions d'application importantes qui sont la normalité et le caractère aléatoire et simple des échantillons. La première condition n'est toutefois pas essentielle lorsque les échantillons ont des effectifs suffisants (en pratique, la valeur de 30 est souvent retenue) pour assurer la quasi-normalité des distributions d'échantillonnage des moyennes (ZARROUK, 2012). Dans le présent test, un lot traité par un produit donné est constitué de 10 souris pour des raisons économiques.

Le degré de signification :

- $P > 0.05$  : la variation est non significative ;  $P < 0.05$  : la variation est significative ;
- $P < 0.01$  : la variation est très significative ;  $P < 0.001$  : la variation est hautement significative.



**Figure II.7** : le test anti-inflammatoire, (a) induction d'une inflammation cutanée par le xylène à 96% après une heure de l'application du chitosane, (b) sacrifice des souris dans un bain d'éther, (c) coupure des oreilles, (d) la prise des disques, (e) pesée des disques.

### II.7.3. Activité cicatrisante des extraits de chitosane de crevettes

L'évaluation de l'activité cicatrisante du chitosane a été réalisée sur un lot de 10 rats adultes de souche Wistar femelles, Le rat Wistar est un albinos, d'un poids qui varie entre 180 et 200g.

- Les rats sont anesthésiés avec une solution de Thiopental à 0,1% administrée par injection intrapéritonéale, puis sont épilés à la main sur la partie dorsale (figure II.8 a,b) ;
- Ensuite une brûlure thermique du 3<sup>ème</sup> degré est induite en utilisant un poinçon métallique préalablement chauffé au bec Bunsen, puis appliqué sur le dos de l'animal pendant 10 secondes (figure II.8 c) ;
- Les rats subissent, par la suite, une application quotidienne sur la surface brûlée d'une couche épaisse de la solution de chitosane solubilisé, pendant 15 jours, tout en couvrant les lésions en utilisant des compresses stériles et du sparadrap (figure II.8 d,e,f) et en respectant les conditions d'asepsie par les mesures suivantes :
  - Nettoyage quotidien ;

- Cages individuelles ;
- Alimentation normale ;

**Remarque :** à J0 les rats ont été gavés avec 2ml d'une solution de glucose à 30%, afin de palier l'effet de l'hypothermie.

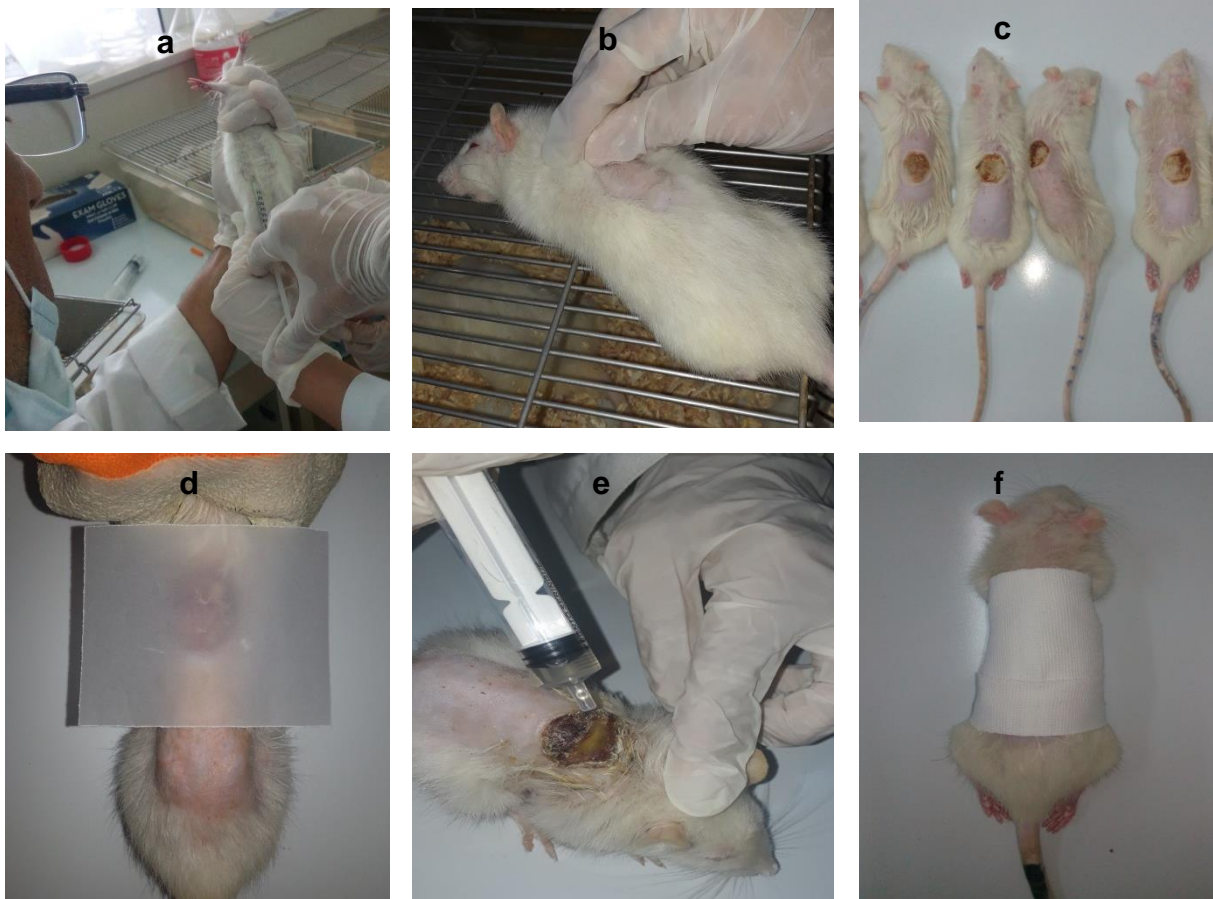
**L'évaluation de l'activité cicatrisante :**

Chaque jour, les contours des lésions sont dessinés sur un papier calque, puis leurs surfaces sont mesurées à l'aide d'un logiciel (Autocad).

Le pourcentage de la réduction de la surface brûlée par rapport à la surface initiale a été mesuré selon la méthode décrite par (KIM *et al.* 2008). Et la formule utilisée est la suivante :

$$R\% = \frac{S_0 - S_n}{S_0} \times 100$$

Avec :  $S_0$  : surface brûlée en  $\text{cm}^2$  à J0, et  $S_n$  : surface brûlée en  $\text{cm}^2$  à Jn.



**Figure II.8:** les étapes de l'activité cicatrisante, (a) anesthésier les rats, (b) épilation de la face dorsale, (c) induction d'une brûlure, (d) calquer la superficie de la plaie, (e) application du traitement, (f) couvrir la brûlure.

# **Chapitre III : Résultats et discussions**

### III.1. Identification des espèces de crabes et de crevettes

L'identification des espèces de crustacés est basée sur plusieurs critères distinctifs décrits dans la fiche FAO (FISCHER, 1987) et consignés dans le **tableau III.1**, pour les crevettes, c'est la morphologie du rostre et du telson qui est prise en considération, pour le crabe c'est celle de la tête et des pinces. Les espèces identifiées sont les suivantes (Figure III.1) :

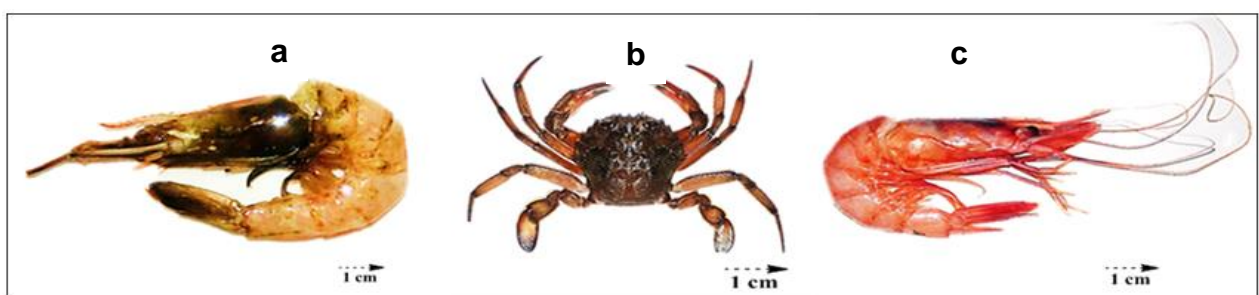
**-Crevettes :** *Parapenaeus longirostris*, (crevette rose)

*Aristeus antennatus* (crevette rouge)

Les deux espèces présentent un corps lisse et mou avec la présence de petites pinces aux trois premières paires de pattes. On distingue une coloration rouge pâle avec un rostre légèrement dentée chez *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) ; et une couleur rose orangée avec un rostre recourbé en haut avec 8 dents, ainsi qu'un telson se terminant par 3 grandes dents, aiguës et fixes chez *Parapenaeus longirostris* (Lucas, 1846).













**-Crabes :** *Liocarcinus depurator* (étrille à pattes bleues)

La carapace de L'étrille à pattes bleues est plus large que longue, assez plate et ornée sur le dos de granulations et de fins sillons transverses garnis de petits poils. Le front porte 3 dents pointues et égales. Les pinces sont fortement carénées avec une dent puissante sur le bord interne du carpe. La dernière paire de pattes, transformée en appendices natatoires, est de couleur bleutée à violette. La couleur de l'animal est brun-rouge, tirant sur le mauve. Sa taille moyenne est de 40 mm (maximum 52 mm) de largeur pour 30 mm (40 mm maximum) de longueur.



**Figure III.1:** les différentes espèces identifiées, (a) *Parapenaeus longirostris*, (b) *Liocarcinus depurator* et (c) *Aristeus antennatus*

**Tableau III.1:** Les critères distinctifs des espèces identifiées (FISCHER, 1987)

Espèces	Taille	Caractères distinctifs
<p><i>Parapenaeus longirostris</i> (Lucas, 1846)</p>	<p>8 à 14 cm (mâles), et 12 à 16 cm (femelles)</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;">   </div> <p><u>Le rostre</u> : bien développé et armé de dents, il est légèrement recourbé vers le haut, et dépasse légèrement le pédoncule antennulaire, son bord dorsal avec 8 dents environ dont la postérieure est épigastrique et nettement séparée des autres</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around;">   </div> <p><u>Le telson</u> : se termine par 3 grandes dents aiguës et fixes.</p>
<p><i>Aristeus antennatus</i> (Risso, 1816)</p>	<p>10 à 18 cm</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;">   </div> <p><u>Le rostre</u> : armé de trois dents sur le bord dorsal.</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around;">   </div> <p><u>Le telson</u> : long et très étroit, comprimé latéralement, se termine par une pointe aiguë.</p>
<p><i>Liocarcinus depurator</i> (Linnaeus, 1758)</p>	<p>3 à 5 cm.</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;">   </div> <p><u>La tête</u> : avec un bord frontal armé de 3 dents égales, triangulaires et aiguës, la médiane est un peu plus longue que les autres et un bord antérolatéral avec 5 dents très aiguës et subégales.</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around;">   </div> <p><u>La pince</u> : paume du chélipède armée de crêtes lisses et tranchantes, doigts sillonnés</p>

### III.2. Composition biochimique globale des coproduits de crevettes et de crabes

La composition biochimique du mélange des coproduits de crevettes *Parapenaeus longirostris* et *Aristeus antennatus* et du crabe *Liocarcinus depurator* est présentée dans le **tableau III.2** et la Figure III.2 :

**Tableau III.2:** Données comparatives de la composition biochimique globale des coproduits de crevettes et de crabes

Teneurs (%) / MS	Présente étude (Crevettes)	(KEFIL, 2020) (Crevettes)	(OULHIZ, 2018) (Crevettes)	Présente étude (Crabes)	(RINTSANA, 2016) (Crabes)
<b>Teneur en eau (%)</b>	14.61	10.5	10.9	3.8	3.82 – 4.13
<b>Teneur en minéraux (%)</b>	37.49	32.6	28.09	54.27	66.8 – 69.8
<b>Teneur en protéines (%)</b>	28.96	24.26	30.63	17.24	8.5 – 11.25
<b>Teneur en lipides (%)</b>	6.99	8.7	3.22	7.29	0.064 – 2.65

La teneur en eau du mélange des coproduits de crevettes (*Parapenaeus longirostris* et *Aristeus antennatus*), est de 14.61% du poids sec, cette valeur est proche de celle rapportée par USHAKUMARI et RAMANUJAN (2012) (15%) chez la crevette *Parapenaeus longirostris*. Elle est légèrement supérieure à celle mentionnée par KEFIL (2020) (10.5%) et par OULHIZ (2018) (10.9%) pour les mêmes espèces.

En ce qui concerne la teneur en matière minérale, la valeur obtenue était de 37.49%, cette valeur se rapproche de celle relevée par KEFIL (2020) (32.6%), mais elle reste supérieure à celles obtenues par LE ROUX (2012) pour *Penaeus vannamei* (24,2%), par RANDRIAMAHATODY (2011) pour *Penaeus monodon* (24,29%) et OULHIZ (2018) pour *Aristeus antennatus* (28.09%). Pour la teneur en lipides, la valeur obtenue était de 7.01% qui est le double de celle mentionnée par OULHIZ (2018) (3.22 %).

Quant à la teneur en protéines totales, la valeur était de 28.96%, cette dernière se rapproche de

celle obtenue par KEFIL (2020) (24.26%) et par OULHIZ (2018) (30.6%).

Par rapport aux coproduits de crabes (*Liocarcinus depurator*), la teneur en eau était de 3.8% du poids sec. Ces résultats corroborent avec ceux obtenus par RINTSANA (2016).

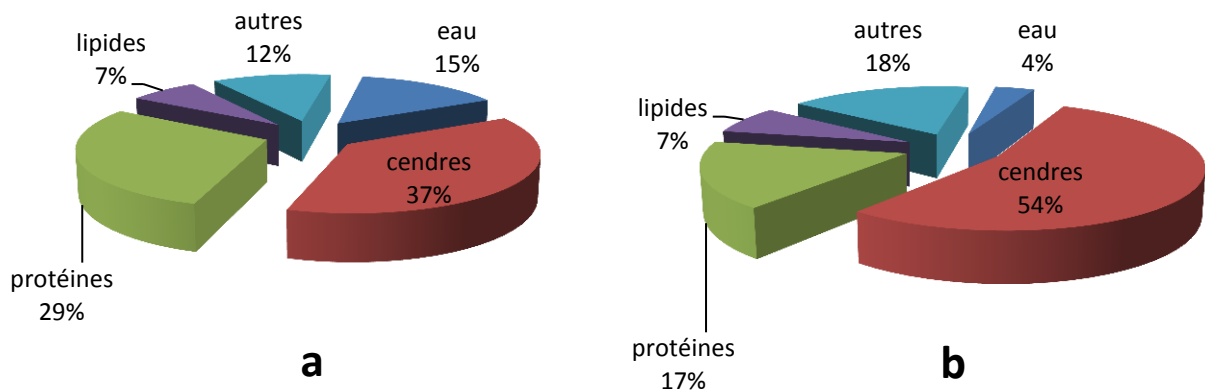
La teneur en matières minérales (54.27%) est plus basse que celle signalée par HAMDI *et al.* (2018) (59%) pour le crabe bleu (*Portunus segnis*) et par RINTSANA (2016) (66 – 69%).

Il semblerait que (*Liocarcinus depurator*) soit plus riche en lipides (6.99%) que *Carcinus mediterraneus* (0.7%) (HAJJI *et al.* 2015), que *Portunus segnis* (1.07%) (HAMDI *et al.* 2018) et que le crabe des mangroves (0.064%) (RINTSANA, 2016).

La teneur en protéines de l'étrille à pattes bleues était de 17.24%, cette valeur est supérieure de celles mentionnées pour le crabe vert *Carcinus aestuarii* du Nord de Sfax (BAKLOUTI ZOUARI, 2010) et celui des mangroves (RINTSANA, 2016) qui sont respectivement de (11.88 % et 11.23%).

Il est admis que la composition chimique globale des coproduits de crustacés (crevettes et crabes) varie en fonction de l'espèce, du sexe, de l'âge, et aussi en fonction des saisons et des conditions environnementales. Ces variations peuvent exister au sein d'un même individu. En effet, des fluctuations parfois importantes dans la composition chimique des coproduits ont été signalées par plusieurs auteurs pour un même individu qu'il s'agisse de crabes (carapaces, pattes et pinces) (RINTSANA, 2016) ou de crevettes (céphalothorax et carapace) (RANDRIAMAHATODY, 2011). Cette grande variabilité dans les teneurs en protéines, lipides et minéraux a été déjà signalé par d'autres travaux antérieurs WALDECK *et al.* (2006) et KURITA (2006).

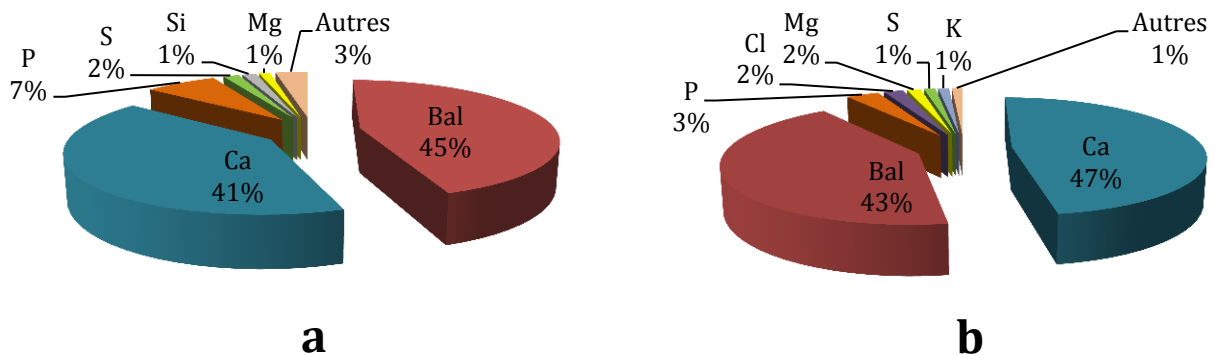
De l'ensemble des résultats obtenus dans le cadre de cette étude, on peut conclure que les coproduits de crabes sont une bonne source naturelle de minéraux, de glucides, de protéines et de et contiennent de faibles taux de lipides. De même, l'échantillon de crevettes (mélange des deux espèces) contient de grandes quantités de cendres suivis de protéines et de glucides. Ces derniers représentent la fraction chitineuse des crustacés (Figure III.2).



**Figure III.2:** La composition biochimique des coproduits de crevette (a), et de crabe (b) exprimée en pourcentage par rapport à la matière sèche (MS)

### III.2.1. Composition minérale des coproduits de crabes et crevettes

L'analyse par XRF des carapaces de crevettes (*Parapenaeus longirostris*, *Aristeus antennatus*) et de crabes (*Liocarcinus depurator*) a révélé la présence de plusieurs éléments minéraux. Ces résultats sont représentés dans la figure III.3 ci-dessous.



**Figure III.3 :** Composition en minéraux des carapaces de crevettes (a) et de crabes (b)

Pour les carapaces de crevettes, le Bal et le calcium en sont les principaux composants avec un pourcentage de 45 et 41% respectivement.

La balangeroite (Bal) est un minéral fibreux, rare et récent, trouvé pour la première fois en 1982 dans les serpentinite de la mine d'asbeste de **Balangero**, en Italie. Ce minéral fait partie du groupe des inosilicates, sa formule chimique est  $(Mg,Fe^{2+},Mn^{2+})_{21}[O_3/(OH)_{20}/(Si_4 O_{12})_2]$  et sa couleur est jaune-brun à brun foncé, translucide (COMPAGNONI *et al.*1983). La présence de ce minéral dans les coproduits de crabes et de crevettes est insolite. Des investigations sont en cours pour expliquer son origine.

D'autres éléments sont présents en un pourcentage moindre tels que : le phosphore (7%), le soufre (2%), le silicium (1%) et le magnésium (1%)...

De même, pour la composition minérale des coproduits de crabes, les éléments majoritaires sont : le calcium (47%) et le Bal (43%) et à plus faibles proportions : le phosphore (3%), le chlore (2%), le magnésium (2%), le soufre (1%), le potassium (1%)...

Ces résultats restent plus importants que ceux obtenus par RANDRIAMAHATODY (2011) pour *Parapenaeus longirostris* qui sont de 6% pour le calcium, 0.61% pour le magnésium et 0.68% pour le phosphore.

Il a été noté dans les résultats des deux échantillons la présence des éléments métalliques en très faible quantités tels que : l'or, le cuivre, le fer, l'arsenic...

### III.3. Rendement d'extraction, identification et caractérisation des pigments

#### III.3.1. Rendement d'extraction

Les résultats des rendements d'extraction des pigments contenus dans les coproduits de crabes et de crevettes sont consignés dans le **tableau III.3** ci-dessous :

**Tableau III.3** : Les rendements d'extraction des caroténoïdes totaux

	<b>Extraction acétone / hexane</b>	<b>Extraction méthanol</b>
<b>Crabe (µg/g)</b>	5.49	3.675
<b>Crevette (µg/g)</b>	23.655	17.4

Les rendements d'extraction des pigments par la méthode méthanolique sont plus bas que ceux obtenus par la méthode d'acétone/ hexane.

Le rendement d'extraction des pigments à partir des crevettes (23.655µg/g) est plus important que celui des crabes (5.49µg/g), cela peut être expliqué par le fait que les crevettes (*Parapenaeus longirostris* et *Aristeus antennatus*) sont plus colorées que les crabes (*Liocarcinus depurator*). Ces taux sont inférieurs à celui relevé par DALEI et SAHOO (2015) pour les crevettes qui était de 36.28µg/g, ceci peut être expliqué que par manque de réactifs (hexane et acétone), l'extraction des pigments était incomplète et la décoloration des carapaces n'était pas totale (Annexe 04).

Par ailleurs, selon OUELLET (2015), la teneur et le profil des caroténoïdes dans les coproduits de crustacés changent en fonction de la saison de pêche. En effet, les teneurs en caroténoïdes totaux passent de 28.26 µg/g en avril à 54.66µg/g en juillet et à 78.96 µg/g en fin septembre. Il a constaté que les caroténoïdes di-estérifiés constituent la source principale de caroténoïdes suivi

des mono-estérifiés et de l'astaxanthine libre dans les coproduits de crevette, crabe des neiges et des carapaces des corps crues du crabe commun et de homard.

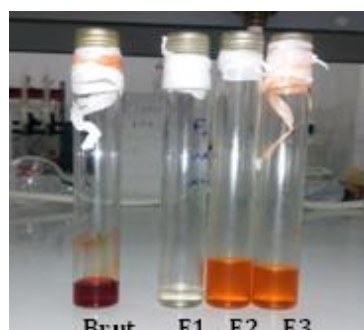
Dans une autre étude menée par HASSEN *et al.* (2015), il a été constaté que le rendement d'extraction de l'astaxanthine à partir des carapaces de crevettes (*Parapenaeus longirostris*) dépendait énormément des conditions et du mode d'extraction. Il en ressort qu'une granulométrie fine (<0,5 mm) et une cuisson sont essentielles pour maximiser le rendement d'extraction. L'utilisation d'un mélange de solvant polaire et apolaire représente un bon compromis pour optimiser la production. La technique alternative (Accelerated Solvent Extraction (ASE) permet de réaliser une économie substantielle en temps et en quantités de solvants consommés.

### III.3.2. Caractéristiques spectrales des pigments extraits

Les extraits bruts des crabes et de crevettes obtenus sont de couleur orange et rouge foncé respectivement (figures III.4 et III.5). Cela signifie qu'ils absorbent la plupart des spectres lumineux dans le bleu. La séparation par chromatographie de partage des pigments contenus dans les extraits bruts a été réalisée à l'aide d'un mélange de solvants apolaire (hexane) et polaire (acétone) en faisant varier les proportions (100/0, 92/8 et 80/20) afin de permettre une meilleure élution. Le solvant (100% hexane) a permis l'obtention de la fraction hexane constituant le blanc. Le solvant (hexane (92%) / acétone (8%)) a permis l'élution de la fraction F2 contenant les mono-esters et les diesters d'astaxanthines. Le solvant (hexane (80%) / acétone (20%)) a permis l'élution de la fraction F3 contenant l'astaxanthine libre. Les extraits méthanoliques (figure III.6), quant à eux, ils n'ont pas été fractionnés.



**Figure III.4:** Pigments de crabes (extrait brut et fractions)

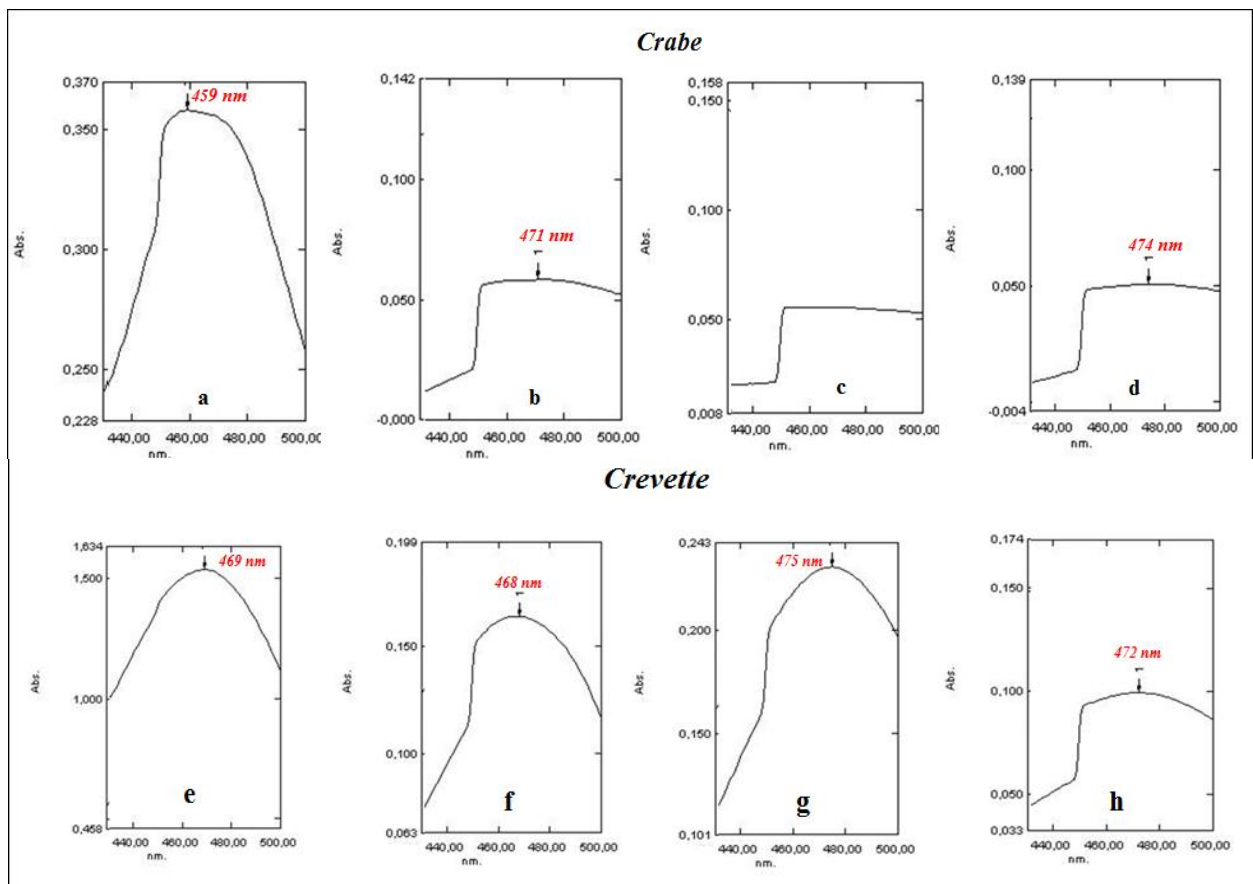


**Figure III.5:** Pigments de crevettes (extrait brut et fractions)



**Figure III.6:** Extraits bruts méthanoïques de crabes et crevettes

L'analyse spectrale des pigments extraits a permis de mettre en évidence des pics d'absorbance à des longueurs d'ondes spécifiques dans le domaine visible (400-500nm), les résultats obtenus sont illustrés dans la figure III.7 ci-dessous :



**Figure III.7:** Spectres d'absorption des pigments extraits des carapaces de crabes et de crevettes ; (a et e) les extraits bruts ; (b et f) les esters d'astaxanthine ; (c et g) la fraction d'astaxanthine ; (d et h) les extrait méthanoliques.

Les spectres observés pour les extraits de crabes et de crevettes ont quasiment la même allure comme le montre la figure III.7 (a et e) avec un pic à 469 nm pour celui des crevettes et à 459 nm pour celui des crabes. Selon BRITTON (1995) les caroténoïdes absorbent la lumière du visible entre 400 et 500 nm. De ce fait, on peut conclure que les extraits bruts de crabes et de

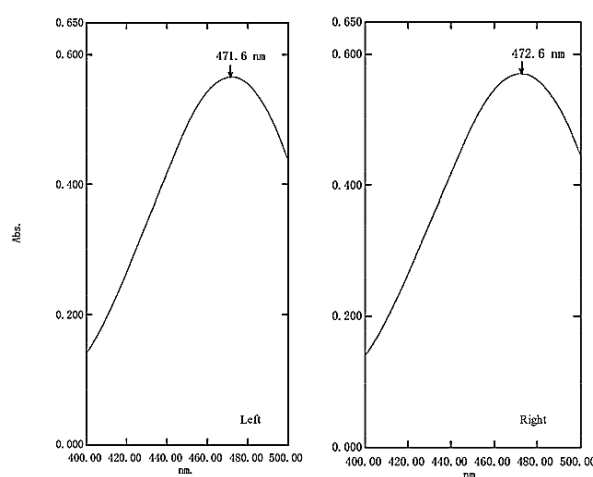
crevettes contiennent des caroténoïdes. On remarque aussi que les DO relevés pour les extraits bruts et les fractions issus des crevettes sont plus importantes que celles des crabes, ce qui indique que la concentration en pigments obtenus des crevettes est plus élevée que celle des pigments de crabes. Ces résultats concordent avec les rendements d'extraction obtenus.

Pour la fraction 2 des esters d'astaxanthine des crevettes (de couleur orange) et des crabes (de couleur jaune), les spectres n'ont pas la même allure (figure III.7 b et f), mais ils présentent le même pic d'absorption pour les crevettes à 468nm et pour les crabes à 471nm. La différence de l'allure peut être due à la concentration de chaque fraction et à la nature des acides gras liés à l'astaxanthine.

Concernant la fraction 3 de l'astaxanthine, les extraits sont de couleur orange pour les crevettes et jaune claire pour celui des crabes (figures III.4 ; III.5). Les spectres obtenus montrent la présence d'un pic significatif à 475nm dans la F3 des crevettes mais il est absent dans celle des crabes (figure III.7 c et g).

Quant aux extraits méthanoliques des crevettes et de crabes dont la couleur est rouge et orange, respectivement comme le montre la figure III.6, les spectres obtenus ont quasiment la même allure avec un pic à 472 nm pour celui des crevettes et à 474 nm pour celui des crabes.

Selon les résultats obtenus par ZHANG *et al.* (2015), l'absorbance de l'astaxanthine standard est à 472.6 nm (figure III.8), ce qui confirme que la fraction 3 des pigments extraits à partir des carapaces de crevettes et les deux extraits méthanoliques de crabes et de crevettes contiennent l'astaxanthine.



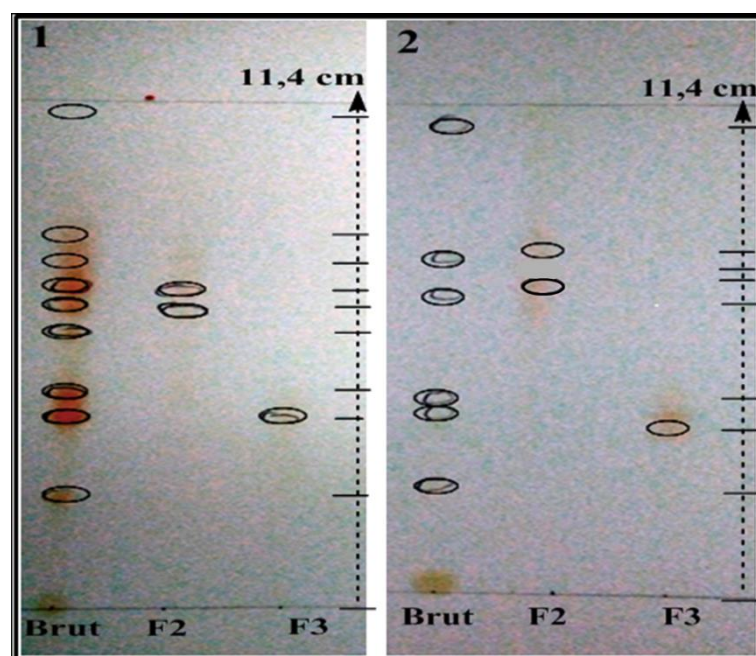
**Figure III.8:** Spectres d'absorption de l'astaxanthine extraite d'*Adonis amurensis* (gauche), d'astaxanthine standard (droite) (ZHANG *et al.* 2015)

### III.3.3. Caractérisation chimique des pigments extraits

Cette technique est utilisée essentiellement pour déterminer la nature des pigments présents dans l'extrait brut. La migration est relativement rapide. Les solutés apolaires comme les carotènes, migreront plus rapidement, par contre les solutés polaires comme les xanthophylles resteront à la base de la plaque.

Chaque pigment sera caractérisé, dans un système donné, par sa référence front  $R_f$  (**Tableau III.4**). L'estérification de la molécule d'astaxanthine libre, par un ou deux acides gras (AG) modifie leur  $R_f$  par rapport à celui de l'astaxanthine libre en raison d'une diminution de leur polarité. Les monoesters d'astaxanthine migrent ainsi moins vite que les diesters (RMIKI, 1999).

La purification et l'identification des caroténoïdes obtenus par l'extraction (acétone/hexane) a permis de mettre en évidence plusieurs bandes comme le montre la figure III.9 qui représentent les différentes molécules qui les composent. La migration de ces différents composés dépend de leur polarité et leur affinité avec la phase stationnaire. La CCM a été procédée en utilisant une phase mobile contenant l'éther de pétrole, l'acétone et le cyclohexane (85 ; 10 ; 5).



**Figure III.9:** Chromatographie sur couche mince des extraits de crevette (1) et de crabe (2)

**Tableau III.4:** Les rapports frontaux des extraits bruts et des fractions F2 et F3

	Extrait brut (crevette)	F2	F3	Extrait brut (crabe)	F2	F3
Bande 1	0.22	-	0.36	0.22	-	0.35
Bande 2	0.36	-	-	0.36	-	-
Bande 3	0.41	-	-	0.39	-	-
Bande 4	0.53	-	-	-	-	-
Bande 5	0.59	0.59	-	-	-	-
Bande 6	0.62	-	-	0.63	0.63	-
Bande 7	0.67	0.65	-	0.69	0.66	-
Bande 8	0.73	-	-	-	-	-
Bande 9	0.98	-	-	0.95	-	-

Le profil de la CCM pour les extraits bruts (crabe, crevette) ressemble à celui obtenu par DALEI et SAHOO (2015).

La séparation des pigments caroténoïdes a permis de mettre en évidence neuf bandes pour l'extrait brut des crevettes et six pour celui des crabes. Toutes les bandes apparues sont de couleur orange et une seule est de couleur jaune (la dernière bande).

Concernant la phase mobile utilisée, elle est composée à 85% d'un solvant apolaire (éther de pétrole), ceci implique que plus les composés contenus dans l'échantillon sont apolaires plus ils vont migrer plus loin.

Pour les extraits bruts de crevette, plusieurs bandes ont migré aux mêmes distances avec des  $R_f$  : 0.22 ; 0.36 ; 0.41 ; 0.62 ; 0.67 (oranges) et 0.98 (jaune), à l'exception de trois bandes de plus qui sont apparues dans l'extrait brut de crevettes mais pas dans celui des crabes dont les  $R_f$  sont : 0.53 ; 0.59 ; 0.73.

LORENZ TODD (1998) a utilisé une phase mobile composée d'acétone/ hexane, les  $R_f$  des bandes obtenues sont : 0.25 ; 0.33 ; 0.40 ; 0.50 ; 0.75 ; 0.88 et 0.99, comme le montre le **tableau III.5**, qui correspondent respectivement aux : lutéine, astaxanthine libre, cantaxanthine, astaxanthine monoester, astaxanthine diester, échinonones et  $\beta$ -carotène. En projetant ces résultats par rapport à ceux obtenus dans la présente étude, les  $R_f$  suivants : 0.22 ; 0.36 ; 0.41 ; 0.67 et 0.98 pourraient correspondre aux : lutéine, astaxanthine libre, cantaxanthine, astaxanthine diester et  $\beta$ -carotène respectivement.

Concernant la fraction 2 ( $F_2$ ), sensée contenir les esters d'astaxanthine, deux bandes sont apparues sur la CCM pour les deux extraits crabe et crevettes.

Selon DALEI et SAHOO, (2015), qui a utilisé une phase mobile différente (acétone, hexane (1 ;3)), les bandes avec des  $R_f$  0.36 ; 0.60 ; 0.75 correspondent à l'astaxanthine, l'astaxanthine monoester et l'astaxanthine diester respectivement, et étant donné que la phase mobile utilisée est composée à 85% d'un solvant apolaire, cela laisse supposer que les bandes dont le  $R_f$  égale à 0.59 ( $F_2$  de crevette) et à 0.63 ( $F_2$  de crabe) correspondraient à l'astaxanthine monoester, et les bandes ayant un  $R_f$  de 0.65 ( $F_2$  de crevette) et de 0.66 ( $F_2$  de crabe) correspondraient à l'astaxanthine diester.

Pour les fractions 3 ( $F_3$ ), l'unique bande apparue, pour les crevettes et pour les crabes, avec un  $R_f$  de 0.36 qui correspond à l'astaxanthine.

La différence observée entre les rapports frontaux référentiels et ceux obtenus dans le présent travail peut être due à la nature des pigments extraits et de l'éluant utilisé.

**Tableau III.5:** Les valeurs des rapports frontaux des différents caroténoïdes (LORENZ TODD, 1998)

Caroténoïde	$R_f$
$\beta$ -carotène	0.99
Echinenone	0.87
di-esters d'astaxanthine	0.75
Mono-esters d'astaxanthine	0.50
Canthaxanthine	0.40
Astaxanthine libre	0.33
Lutein	0.25

#### III.4. Rendement massique des chitosanes produits

Les rendements massiques des chitosanes préparés à partir des coproduits de crabes et de crevettes sont les suivants :

**Tableau III.6:** Rendements d'extraction du chitosane

	Crevette	Crabe
<b>Rendement d'extraction</b>	9.6%	4%

La déprotéinisation, la déminéralisation et la désacétylation de la chitine ont permis d'obtenir un chitosane à partir des coproduits de crevettes (*Parapenaeus longirostris* et *Aristeus antennatus*) avec un rendement massique de 9.6%.

Ce taux est supérieur à ce qui a été rapporté par plusieurs auteurs tels que CHENNIT et NAIT YAHIA (2015) (rdt= 8.1%), KEFIL (2020) (6.84%).

Cette valeur est similaire à celle obtenue par OULHIZ (2018) (9.02%), concernant le chitosane extrait à partir des carapaces de crabe *Liocarcinus depurator* le rendement était de 4%, cette valeur est très inférieure de celle mentionnée par RINTSANA (2016) (9%).

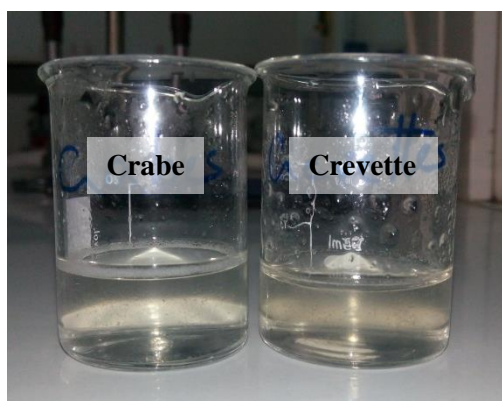
Les rendements massiques varient en fonction de plusieurs facteurs tels que : la méthode d'extraction, l'espèce utilisée, les saisons et les conditions environnementales (zones de pêche) (ÖZOGUL *et al.*2018).

### **III.5. Caractérisation des chitosanes produits**

Afin de caractériser et d'apprécier la qualité des chitosanes extraits à partir des coproduits de crabes et de crevettes, leur teneur en minéraux et en protéines résiduels, leur solubilisation dans un acide dilué et leur degré de désacétylation par titration volumétrique et par méthode FTIR ont été déterminés.

#### **III.5.1. Solubilité**

Les chitosanes extraits à partir des coproduits de crevettes et de crabes sont parfaitement solubles dans la solution d'acide acétique à 1%, la solution est translucide avec un aspect visqueux (Figure III.10). Ceci indique également que la chitine a été correctement désacétylée.



**Figure III.10:** Solubilisation des chitosanes extraits de crabes et de crevettes dans l'acide acétique

Contrairement à la chitine qui est insoluble dans les solvants aqueux, le chitosane est soluble dans les acides faiblement dilués (comme l'acide acétique, lactique, citrique,...).

En raison de sa solubilisation en solution acide, le chitosane se comporte comme un polyélectrolyte cationique de forte densité de charge. Ses propriétés dépendent du pH du milieu. Le chitosane est solubilisé et il devient cationique quand le pH est inférieur au pKa intrinsèque

de la fonction amine du chitosane soit 6,3. A un pH supérieur (>6,5), les groupements ne sont plus ionisés et le chitosane se précipite (RINAUDO *et al.*1993).

### III.5.2. Caractérisation biochimique du chitosane

La détermination de la teneur du chitosane en protéines et cendres résiduelles permet d'évaluer l'efficacité des traitements de déminéralisation et déprotéinisation appliqués aux coproduits de crevettes et de crabes. Les résultats sont consignés dans le tableau ci-après (**tableau III.7**).

**Tableau III.7:** Degrés de déminéralisation et de déprotéinisation des chitosanes produits

	<b>Crevettes</b>	<b>Crabes</b>
<b>DM (%)</b>	53.31	27.49
<b>DP (%)</b>	100	100

Le degré de déprotéinisation est de 100%, ce qui traduit une élimination complète des protéines. Cela est expliqué par l'utilisation d'une solution très concentrée de NaOH 12.5N qui a permis d'éliminer totalement les protéines.

En revanche, le taux de matière minérale résiduelle du chitosane préparé à partir des crevettes est très élevé, ce qui implique que les minéraux constitutifs de la carapace des crevettes et des crabes sont résistants à l'attaque acide. Cette dernière a permis uniquement la dissolution des carbonates de calcium. La présence du minéral Bal en forte proportion dans les carapaces de crabes et de crevettes est peut être la cause de ce faible taux de déminéralisation. Les concentrations résiduelles en minéraux rapportées par KEFIL (2020) (6.36%) et par OULHIZ (2018) (1.53±0.44%) sont plus basses.

### III.5.3. Degré de désacétylation du chitosane

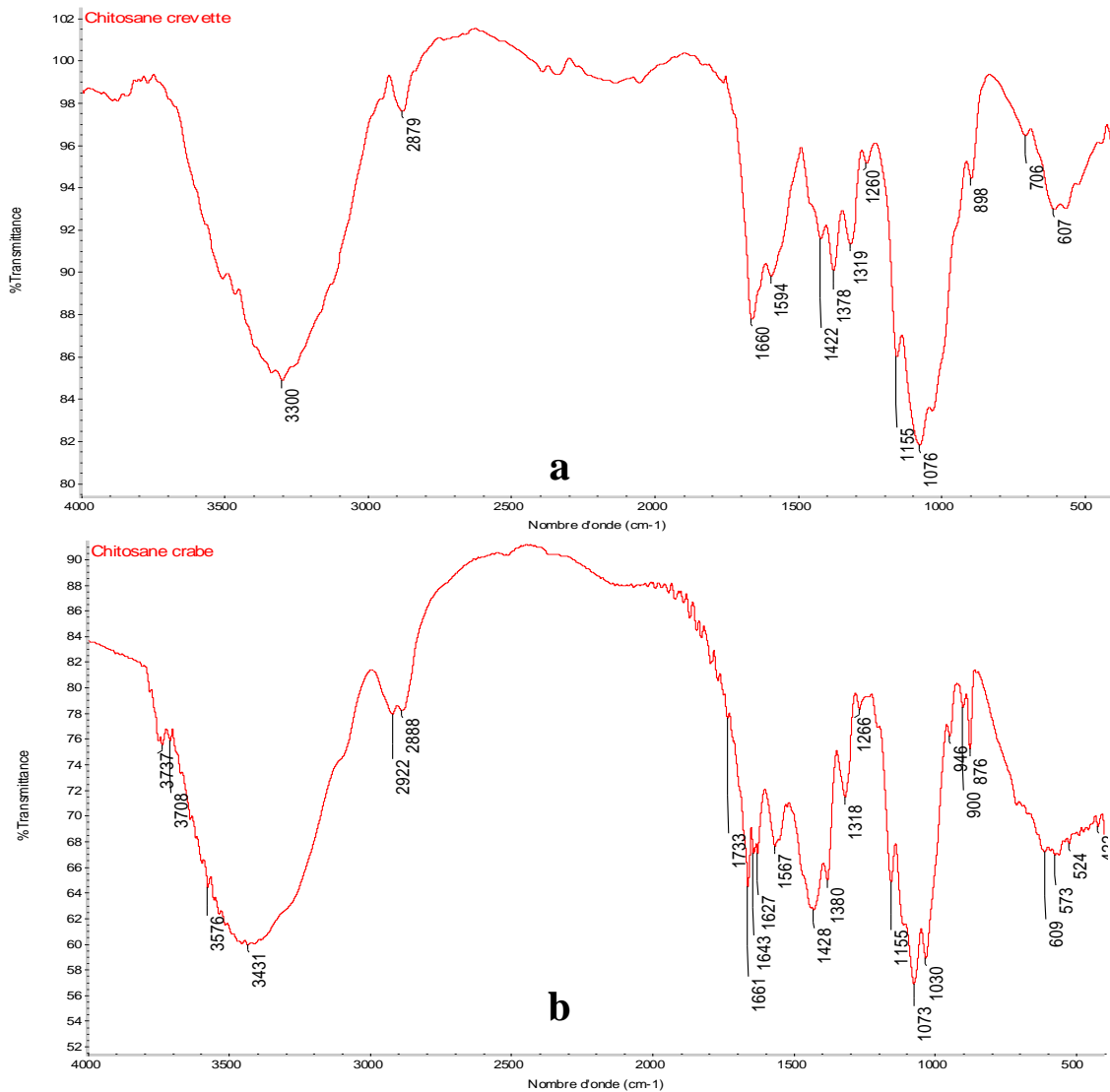
#### III.5.3.1. Dosage potentiométrique

Le degré de désacétylation obtenu par le dosage potentiométrique est de 88.12% pour le chitosan extrait des crevettes, ce qui est supérieur aux résultats obtenus par OULHIZ (2018) qui varient entre 65 et 72.73% et par BELLOUTI (2018) qui varient entre 50 et 59%.

Quant aux crabes le DDA était de 82.39%, cette valeur reste largement supérieure à celles mentionnées par RINTSANA (2016) (entre 50.80 et 59.01%) pour le crabe.

### III.5.3.2. Spectrophotométrie infrarouge (FTIR)

La FTIR a été réalisée dans la gamme de fréquences  $4000\text{--}500\text{ cm}^{-1}$  sur des pastilles de KBr contenant les chitosanes produits à partir des coproduits de crevettes et de crabes. La caractérisation entraîne l'apparition d'une série de pics d'absorption qui sont représentés dans la figure III.11 ci-dessous :



**Figure III.11:** Spectres FTIR des chitosanes de crevettes (a) et de crabes (b) produits

Les spectres révélés par la FTIR ont permis de mettre en évidence plusieurs liaisons caractéristiques du chitosane telles que : les liaisons (O-H) dans les régions  $3300$  et  $1155\text{ cm}^{-1}$ , les

liaisons (C-H) dans les régions 2879cm<sup>-1</sup>, 2922 et 2888cm<sup>-1</sup>, les liaisons C=O aux pics 1660, et aussi des liaisons (N-H) dans les régions 1643, 1594cm<sup>-1</sup>.

En se basant sur les spectres obtenus et en utilisant la formule mentionnée par HAFSA *et al.*(2016), le DDA calculé est de 80.31% pour le chitosane obtenu des coproduits de crevettes et de 79.31% pour celui extrait des coproduits de crabe, ces résultats sont légèrement supérieurs à ceux obtenus par RINTSANA, (2016) pour le crabe en utilisant la même méthode et qui varient entre 64.5 et 72.26%.

Les degrés de désacétylation obtenus par la méthode potentiométrique sont plus importants que ceux obtenus par FTIR.

Ces résultats restent supérieurs à ceux obtenus par OULHIZ (2018) sur la crevette rouge *Parapenaeus longirostris*, en utilisant deux méthodes chimiques (65 et 72.73%). Cette différence peut être due à la concentration de NaOH utilisée pour la désacétylation de la chitine qui est de 12,5N dans le présent travail et de 10N chez OULHIZ (2018).

Les degrés de désacétylation de la chitine extrait des carapaces de crabes et de crevettes sont représentés dans le **tableau III.8** ci-dessous :

**Tableau III.8** : Les degrés de désacétylation de la chitine

	Présent travail		Résultats de OULHIZ, 2018 (crevettes)	Résultats de RINTSANA, 2016 (crabes)	Résultats de BELLOUTI et HADJ JILANI, 2018 (crevettes)
	Méthode potentiométrique	FTIR			
<b>Crevettes</b>	88,12 %	80,31 %	72,34 %	-	82,59 %
<b>Crabes</b>	82,39 %	79,31 %	-	72,26 %	-

La méthode potentiométrique a montré des résultats de DDA meilleurs à ceux obtenus par FTIR, toutefois il est à noter que cette dernière reste la plus précise.

### III.6. Propriétés pharmacologiques des pigments et des chitosanes produits à partir des coproduits de crevettes et de crabes

#### III.6.1. Activité antimicrobienne des pigments extraits

L'activité antimicrobienne des pigments extraits à partir des carapaces de crustacés (crabe et crevette) vis-à-vis des germes pathogènes, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* et *Aspergillus sp*, a été évaluée en utilisant la méthode des puits de diffusion sur gel. L'inhibition est notée positive si le diamètre est supérieur à 2mm (THOMPSON *et al.*1996). Huit échantillons ont été testés pour leur pouvoir antimicrobien. Il s'agit des pigments, de crabes et de crevettes, bruts extraits aux solvants méthanol et au mélange (acétone/hexane) ainsi que les fractions dérivées.

Les résultats obtenus sont résumés dans le **tableau III.9** ci-dessous :

**Tableau III.9:** Pouvoir antimicrobien des échantillons de pigments vis-à-vis des souches pathogènes testées.

	Crevette				Crabe			
	brut	F2	F3	Extrait méthanoïque	brut	F2	F3	Extrait méthanoïque
<i>E.coli</i>	-	-	-	4mm	-	-	-	-
<i>S.aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	7mm
<i>Enterococcus</i>	-	-	-	6mm	-	-	-	-
<i>Aspergillus sp</i>	-	-	-	-	-	-	-	-

(-) signifie absence de d'activité inhibitrice.

Les blancs (méthanol, acétone, hexane) n'ont montré aucune activité antimicrobienne contre les germes pathogènes, d'origine marine, testés.

Au regard du **tableau III.9**, aucune activité antimicrobienne n'a été détectée contre tous les germes cibles pour les extraits bruts des carapaces de crevette et de crabe ainsi que pour les fractions 2 (les esters d'astaxanthine) et 3 (Astaxanthine libre).

Cependant, l'extrait méthanolique de crevettes a présenté deux activités inhibitrices ( $\emptyset > 2\text{mm}$ ) l'une vis-à-vis d'un bacille à Gram négatif *E.coli* et l'autre contre un cocci à Gram positif *Enterococcus* (streptocoques fécaux) (figure III.12).

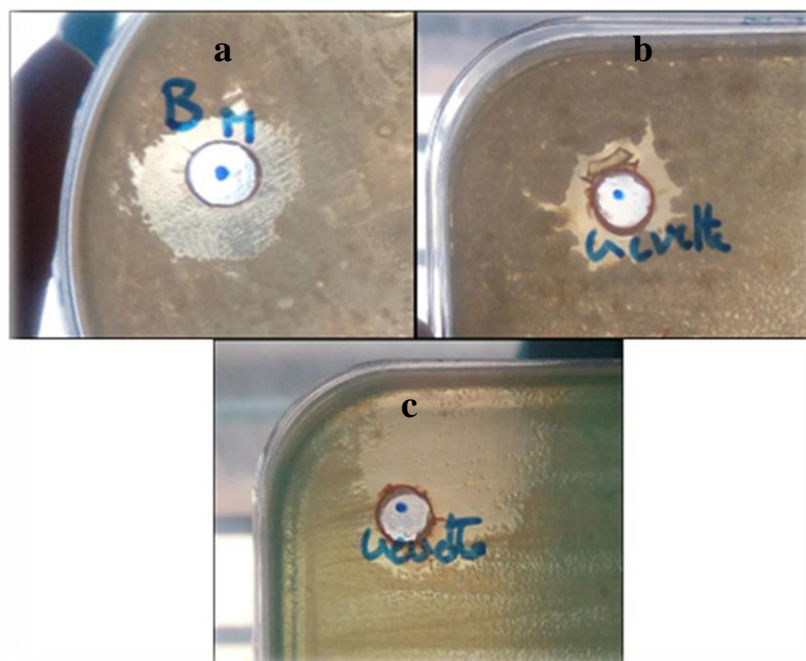
Par rapport aux extraits méthanoliques des crabes une seule activité inhibitrice a été détectée contre un cocci à Gram positif "*S.aureus*" avec un diamètre d'inhibition de 7mm (figure III.12).

Des études réalisées par USHAKUMARI et RAMANUJAN (2012) ont montré que l'astaxanthine présente une activité inhibitrice contre *S.aureus* avec une zone d'inhibition de 16

mm de diamètre. Ceci ne correspond pas aux résultats obtenus dans le présent travail avec la fraction trois qui est sensé contenir l'Astaxanthine libre.

L'absence ou la faible activité antimicrobienne des pigments extraits peut être expliquée en partie par la détérioration des extraits durant le stockage suite au confinement subite lié à la pandémie Covid-19, le test de l'activité antimicrobienne a été réalisé 08 mois après l'extraction.

En effet, dans une étude menée par DA COSTA CARDOSO (2008) sur la durée de conservation des pigments caroténoïdes sans ajout d'antioxydants, il a été constaté une diminution très intense du pic d'absorption du pigment qui se traduit par une chute très importante de sa concentration au cours des 3 à 5 premiers jours. Il est à noter qu'après 24 h, la concentration de torularhodine (composant majeur des caroténoïdes extraits) est divisée par 2 et après 30 jours, elle est presque nulle.



**Figure III.12:** Les diamètres d'inhibition des extraits méthanoliques des pigments (a: crabe contre *S.aureus*); (b: crevette contre *E. coli*) ; (c : crevette contre *Enterococcus SF*)

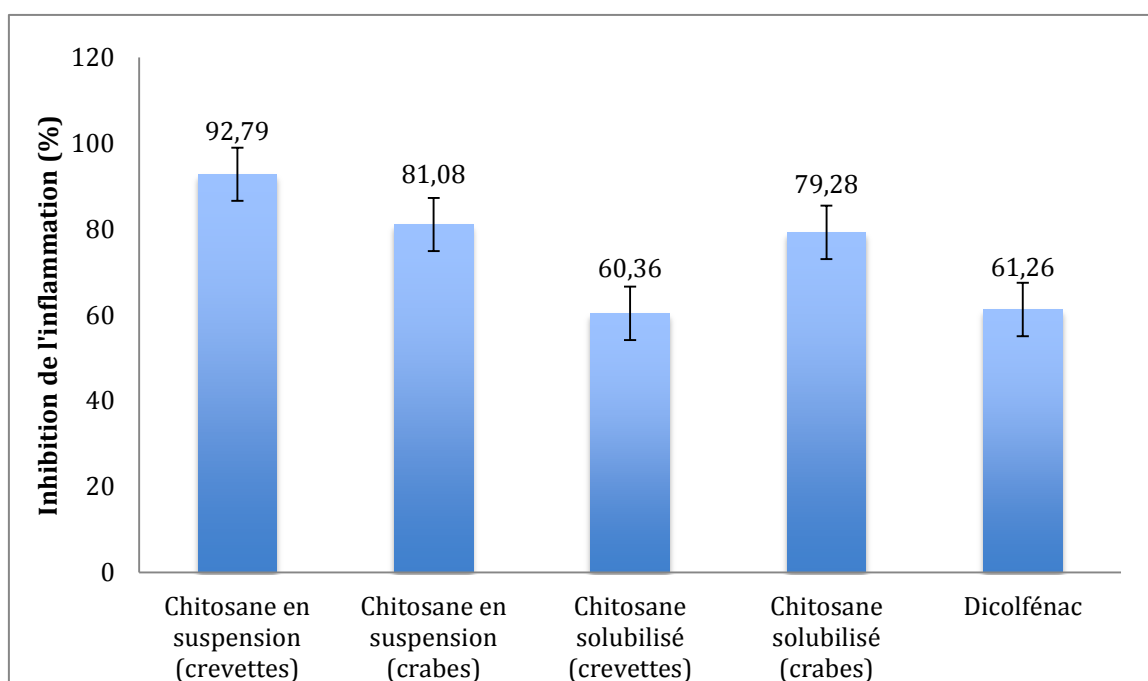
### III.6.2. Activité anti inflammatoire des chitosanes produits

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire du chitosane extrait à partir des carapaces des crustacés (crabe et crevette), a été réalisée sur le modèle de l'œdème de l'oreille de souris induit par le Xylène à 96% et estimée par le pourcentage d'inhibition de l'œdème (PIO) (CHADER, 2019).

Les résultats obtenus sont résumés dans le **tableau III.10** et la figure III.13 suivants :

**Tableau III.10:** Les PIO du chitosane en suspension et solubilisé

	Témoin négatif eau physiologique	Témoin positif Diclofénac	Placebo1 huile de tournesol	Essai1 crevette	Essai1 crabe	Placebo2 acide acétique	Essai2 crevette	Essai2 crabe
Poids de l'œdème (mg)	1,11	0.43	1,08	0,08	0,21	0,84	0,44	0,23
PIO (%)	-	61.26	2.70	92.79	81.08	24.32	60.36	79.27



**Figure III.13:** Potentiel d'inhibition de l'œdème (PIO) pour chaque traitement appliqué sur souris en (%). Les chitosanes de crabes et de crevettes en suspension dans l'huile de tournesol et le chitosane de crabes et de crevettes solubilisés dans l'acide acétique ainsi que du Diclofénac à 1% (témoin positif)

Les résultats de l'activité anti-inflammatoire locale des chitosanes en suspension et solubilisés ont été comparés avec ceux du Diclofénac (Figure III.13) et avec le lot contrôle (témoin négatif non traité).

La pesée des oreilles des souris traitées avec le chitosane en suspension de crevettes et de crabes à 1% a montré une faible différence entre les poids des oreilles traitées et non traitées de 0.08 et

0.21mg respectivement contre une différence de 1.11mg chez le lot témoin négatif (n'ayant subi aucun traitement), ce qui traduit une inhibition très significative ( $p < 0,01$ ) de l'inflammation avec des pourcentages de 92 et 81% respectivement.

Chez les souris traitées localement avec le Diclofénac à 1%, on remarque une inhibition significative ( $p < 0,05$ ) de l'œdème de l'oreille par rapport à celle des souris du groupe témoin négatif, et qui passe de 1.11mg à 0.43 mg ; ce qui correspond à une inhibition de l'inflammation de  $61.26 \pm 0.52$  %.

Quant aux souris traitées avec les solutions du chitosane solubilisé à 1% dans de l'acide acétique, les moyennes des différences entre les poids des oreilles (traitées et non traitées) étaient de 0.44mg (avec  $p < 0.05$ ) pour le chitosane des crevettes ce qui révèle une inhibition significative de l'inflammation avec un PIO de 60% et qui est similaire à celle du Diclofénac.

Pour le chitosane de crabe solubilisé, la moyenne des différences était de 0.23mg (avec  $p < 0.01$ ) et donc une inhibition très significative de l'inflammation avec un pourcentage de 79%, ce résultat est supérieur à celui du Diclofénac.

Il est à noter que les placebos utilisés (l'huile de tournesol et l'acide acétique) ont été testés et n'ont montré aucune inhibition de l'inflammation induite par le xylène ( $p > 0.05$ ).

Les résultats ont montré une légère diminution de l'activité anti-inflammatoire du chitosane solubilisé.

ADNAN *et al.*(2020) ont montré que, suite à une injection intra plantaire chez les rats d'une solution de carragénine (1%), le chitosane O-carbométhylé (dérivé du chitosane) présente un pouvoir anti-inflammatoire de 45.5%, ce résultats reste inférieurs à ceux obtenus dans le présent travail.

Par ailleurs, on constate que le chitosane, en suspension a un pouvoir anti-inflammatoire supérieur à celui solubilisé dans l'acide acétique. Ce dernier provoquerait une perméabilité vasculaire, ce qui accentue le potentiel inflammatoire du xylène (SELLAL, 2018). Le chitosane extrait des carapaces de crevettes possède un potentiel d'inhibition meilleur que le Diclofénac commercial.

### **III.6.3. Activité cicatrisante du chitosane extrait des crevettes**




Faute de temps et à cause de la pandémie du Covid-19 et du confinement, nous n'avons pu tester que le chitosane extrait des coproduits de crevettes, le chitosane de crabe fera probablement l'objet des études ultérieures.


De même, faute d'un nombre suffisant d'animaux, il n'a pas été possible de faire des lots témoins (+ et -), et donc cette étude sert d'amorce pour d'autres travaux futures.

Le pouvoir cicatrisant du chitosane a été évalué sur les brûlures du 3<sup>ème</sup> degré. Le chitosane de crevette a été solubilisé à 1% dans une solution d'acide acétique. L'évolution de la cicatrisation a été suivie d'une manière quotidienne durant 15 jours de traitement en faisant une étude planimétrique.

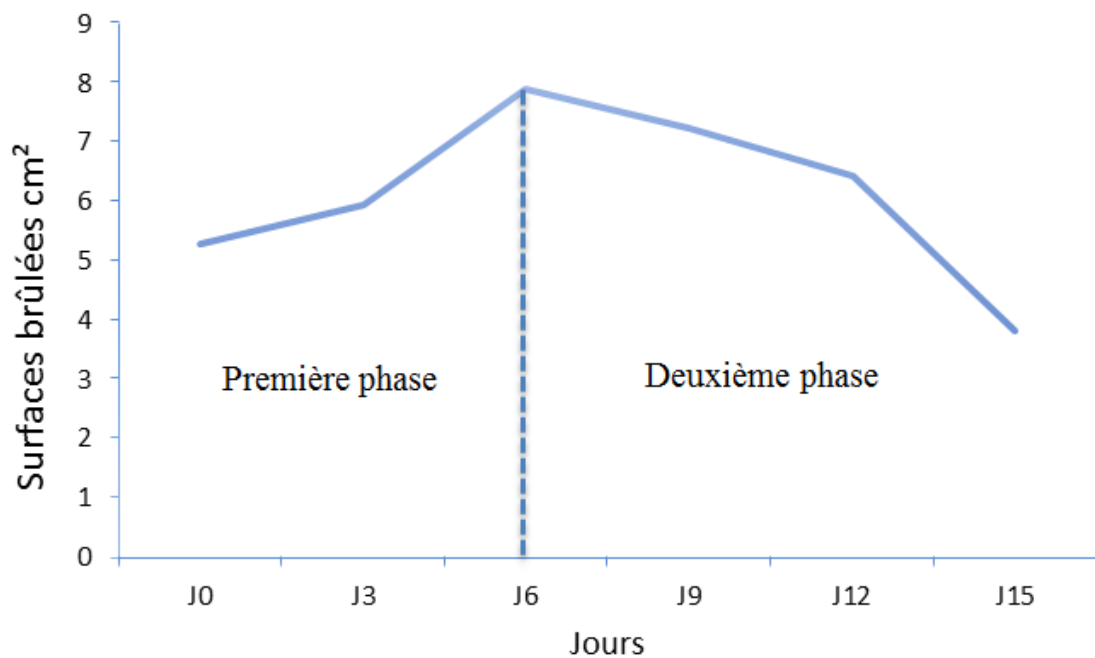
La description macroscopique des brûlures traitées pendant ces 15 jours est représentée dans le **tableau III.11** suivant :

**Tableau III.11:** Descriptions macroscopiques des brûlures traitées avec du chitosane extrait des crevettes durant 15jours (avec un intervalle de 5 jours)

	<p>J0</p>	<p>L'apparition de la peau morte (nécrose de tous les éléments de l'épiderme) ; Les bords de la plaie sont remarquables ; Absence de poils.</p>
	<p>J5</p>	<p>La formation d'une croûte protectrice de la plaie ; Les bords sont moins remarquables ; Absence d'une infection sur la plaie ; L'augmentation de la surface de la plaie ; Absence de poils.</p>
	<p>J10</p>	<p>Réaction inflammatoire Avec un saignement et une fragilité cutanée ; Les bords de la plaie deviennent de moins en moins remarquables ; une diminution de la surface brûlée ;</p>

		absence de poils.
	J15	<p>Une diminution très remarquable du diamètre de la plaie, à cause de la réépithélisation spontanée accélérée des marges de la plaie ;</p> <p>la surface de la plaie devient humide et brillante avec une diminution importante de l'intensité de la coloration rouge, ce qui peut être justifié par la formation du collagène.</p>

Le graphe ci-dessous (figure III.14) présente la variation de la superficie de la plaie pendant le traitement par le chitosane solubilisé dans l'acide acétique :



**Figure III.14:** Evolution des surfaces brûlées en cm<sup>2</sup>

D'après le graphe, la cicatrisation se manifeste en deux phases :

Phase 1 : Une augmentation remarquable des surfaces brûlées qui s'étale sur une durée de cinq jours ; elles passent d'une moyenne de 5,26 cm<sup>2</sup> au J0 à une moyenne de 8,08 cm<sup>2</sup> au J5, ceci est dû à la phase inflammatoire (qui fait partie du processus de cicatrisation). Cette phase fait intervenir des cellules inflammatoires leucocytes (polynucléaires neutrophiles et monocytes) dont le rôle est d'éliminer tous les résidus de l'ancien tissu, et aussi de nettoyer la plaie et la décontaminer de tout agent infectieux, tout cela afin que la prolifération et la migration cellulaires puisse commencer.

A la suite de ces cinq jours, une diminution progressive des surfaces est notée (deuxième phase), pour atteindre une moyenne de 3,8 cm<sup>2</sup> au J15, ce qui correspond à un pourcentage de réduction des brûlures de 28%. Cette diminution est due au déclenchement de la phase de prolifération au cours de laquelle les fibroblastes migrent des extrémités de la plaie vers le centre, et où différentes molécules sont synthétisées afin de former une nouvelle matrice extracellulaire qui sera, par la suite, revascularisée par de nouveaux vaisseaux sanguins pour donner un tissu de granulation (néo-angiogenèse).

Il est à noter l'absence de sulfuration dans les plaies (pas de mauvaise odeur) ce qui indique une bonne qualité de reconstitution.

Le ralentissement du processus de la cicatrisation peut être dû, d'un côté à la croûte formée sur la plaie qui a empêché le déroulement de ce processus, en jouant le rôle d'une barrière entre le chitosane et la plaie KHODJA *et al.* (2013), il aurait donc fallu enlever cette croûte au bout du 5<sup>ème</sup> jour.

D'un autre côté, l'utilisation du chitosane solubilisé dans de l'acide acétique peut avoir un effet négatif sur la cicatrisation, car l'acide acétique provoque une perméabilité vasculaire et donc il stimule le processus inflammatoire ce qui ralentit le processus de la cicatrisation.

DUPASQUIER (2011) a démontré le rôle biologique de l'hydrogel de chitosane dans la cicatrisation et la régénération *in vivo* du tissu cutané après une brûlure profonde du troisième degré. Cet hydrogel a été bien toléré par l'organisme et a permis la régénération de toutes les strates cutanées ainsi que celles du réseau vasculaire. L'auteur a relevé les propriétés antimicrobiennes de cet hydrogel et son intérêt thérapeutique dans la fonctionnalité des néotissus.

Dans une autre étude menée par KHODJA *et al.* (2013), un hydrogel à base de poly (alcool vinylique) contenant 0,25% de chitosane a été synthétisé par irradiation gamma et a été évalué comme matériel de pansement dans un modèle de rat brûlé au deuxième degré. Les analyses histologiques ont montré que les plaies traitées avec PVA / chitosane se cicatrisent dès le 9<sup>ème</sup> jour, tandis qu'il faut attendre le 16<sup>ème</sup> jour pour ceux traités avec un pansement de gaze de paraffine. L'analyse histologique a révélé également que le nouveau tissu de granulation et l'épithélialisation a mieux progressé dans la plaie traitée avec de l'hydrogel PVA / chitosane. L'auteur conclue que l'hydrogel PVA / chitosane présente une bonne efficacité cicatrisante qui peut être exploitée en thérapeutique et a une influence bénéfique sur les différentes phases de cicatrisation des plaies.

## **Conclusion et perspectives**

## Conclusion et perspectives

L'objectif principal de cette étude est la valorisation biotechnologique des coproduits des crustacés, ainsi que les produits issus de la pêche accessoire (les crabes non comestibles) dans un but d'obtenir des biomolécules à haute valeur ajoutée (pigments et chitosane).

Trois espèces de crustacés ont fait l'objet de cette étude, deux espèces de crevettes *Aristeus antennatus* et *Parapenaeus longirostris* et une espèce de crabe *Liocarcinus depurator*.

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

- La caractérisation chimique des coproduits de crabes et de crevettes a montré que les cendres et les protéines sont majoritaires.
- Les rendements de l'extraction des caroténoïdes totaux et du chitosane à partir des coproduits de crevettes sont supérieurs à ceux obtenus à partir des crabes. Les taux obtenus restent acceptables et corroborent avec ceux rapportés dans la littérature (OUELLET, 2015, OULHIZ, 2018).
- L'étude spectral et la caractérisation qualitative par CCM des pigments extraits a permis de confirmer la présence de l'astaxanthine libre dans la troisième fraction F3, ainsi que la présence des formes estérifiées (astaxanthine mono- et diester) dans la deuxième fraction F2 pour ces deux crustacés.
- L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'astaxanthine a révélé une activité inhibitrice pour les extraits méthanoïques issus des crevettes vis-à-vis d'*E.coli* et *Enterococcus* et pour ceux obtenus des crabes contre *S.aureus*. En revanche aucune activité antagoniste n'a été observée pour les pigments obtenus par l'extraction aux solvants (acétone/hexane).
- La caractérisation des chitosanes issus des crabes et des crevettes montre que ces produits sont de bonne qualité avec une bonne solubilisation dans les solutions acides et un grand degré de désacétylation aussi bien pour ceux obtenus des crevettes (80%) que ceux issus des crabes (79%).
- L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire in vivo du chitosane en suspension a montré qu'il a un pouvoir d'inhibition de l'œdème nettement supérieur à celui du Diclofenac commercial et ce quel que soit son origine crevette (PIO=92,79%) ou crabe (PIO= 81,08 %).
- L'étude préliminaire du pouvoir cicatrisant d'une brûlure du 3<sup>ème</sup> degré du chitosane obtenu des coproduits de crevettes, indique que celui-ci est doté d'un pouvoir cicatrisant

très intéressant avec une réduction de 28% des surfaces brûlées après 15 jours de traitement.

A la lumière de ces premiers résultats, il apparaît clairement que les coproduits de crustacés méritent une attention particulière car ils constituent une mine de biomolécules bioactives aux propriétés pharmacologiques multiples.

A l'avenir, il serait intéressant de:

- optimiser les procédés d'extraction de l'astaxanthine et mettre en évidence les activités biologiques (antioxydante, antidiabétique, cytotoxique et anti-inflammatoire).
- étudier les mécanismes biologiques mis en œuvre au cours de la cicatrisation en présence du chitosane en suspension ainsi que ses propriétés antibactériennes.
- Poursuivre la caractérisation des propriétés pharmacologiques du chitosane à savoir l'activité analgésique, antioxydante, antidiabétique et anti-hypertensive.
- Explorer les activités biologiques des autres constituants des coproduits de crevettes de crabes tels que les protéines et les minéraux.

# **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

- ADNAN, S., RANJHA, N. M., HANIF, M., ASGHAR, S. (2020).** O-Carboxymethylated chitosan; A promising tool with in-vivo anti-inflammatory and analgesic properties in albino rats. *International journal of biological macromolecules*, [en ligne]. [Consulté le: 01/11/2020]. Disponible sur le web: [https://scholar.google.com/scholar\\_url?url=https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813020328920&hl=fr&sa=T&oi=gsb&ct=res&cd=0&d=4266145892798857298&ei=Z2fIX6KxJJDWmgHq7L3gBA&scisig=AAGBfm3XJ-LpkJmBFxCxYsQ6iqrnyuA4PQ](https://scholar.google.com/scholar_url?url=https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813020328920&hl=fr&sa=T&oi=gsb&ct=res&cd=0&d=4266145892798857298&ei=Z2fIX6KxJJDWmgHq7L3gBA&scisig=AAGBfm3XJ-LpkJmBFxCxYsQ6iqrnyuA4PQ)
- ANDRIEUX, G. (2004).** La filière française des co-produits de la pêche et de l'aquaculture: état des lieux et analyse. *Etudes de l'Ofimer*, 63, [en ligne]. [Consulté le: 03/11/2020]. Disponible sur le web: <https://www.google.dz/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjK4ta6j4rtAhUxrHEKHQ9vBgEQFjAAegQIARAC&url=http%3A%2F%2Fbibliomer.ifremer.fr%2Fconsult.php%3FID%3D2004-2795&usg=AOvVaw1IWBRXGXo7VZjqMJ9VWawz>
- AOAC. (1980).** Association of official analytical chemists. Official methods of analysis. Washington: DC [en ligne]. [Consulté le: 06/08/2020]. Disponible sur le web: [https://www.domainex.co.uk/services/analytical-sciences?gclid=Cj0KCQjwoJX8BRCZARIsAEWBFMK8eTC0qAxUc3VCl\\_bllbCaQ7L4Gef8AcH3bSxGu4Q7ajrIuXefWTwaAuPyEALw\\_wcB](https://www.domainex.co.uk/services/analytical-sciences?gclid=Cj0KCQjwoJX8BRCZARIsAEWBFMK8eTC0qAxUc3VCl_bllbCaQ7L4Gef8AcH3bSxGu4Q7ajrIuXefWTwaAuPyEALw_wcB)
- AOAC. (1999).** Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. Washington : DC., [en ligne]. [Consulté le: 06/08/2020]. Disponible sur le web: <https://law.resource.org/pub/us/cfr/ibr/002/aoac.methods.1.1990.pdf>.
- ARCHER, M., ETRUSSEL, D. (2008).** Crustacea processing waste management. *Seafish Research & Development*, 60, [en ligne]. [Consulté le: 18/08/2020]. Disponible sur le web: <https://www.seafish.org/document/?id=4013ec6d-2fff-4184-942b-d0a2554cdb9a>
- ASHLEY, N. T., WEIL, Z. M., NELSON, R. J. (2012).** Inflammation: mechanisms, costs, and natural variation. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 43, [en ligne] 385-406. [Consulté le: 03/11/20]. Disponible sur le web: <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev-ecolsys-040212-092530>
- BAKLOUTI ZOUARI, S. (2010).** Contribution à l'étude écobiochimique et biochimique du crabe " *Carcinus aestuarii*" dans la région nord de Sfax. [en ligne]. [Consulté le: 02/12/2020]. Disponible sur le web: <http://hdl.handle.net/1834/5481>
- BALTI, R. (2011).** Valorisation des produits et co-produits de la seiche commune (*Sepia officinalis*) pour l'obtention de biomolécules à haute valeur ajoutée à usage alimentaire et nutraceutique. [en ligne], Lille 1. [Consulté le: 20/05/2020]. Disponible sur le web: <https://www.theses.fr/2011LIL10164>
- BELLOUTI, H. D. (2018).** Préparation de chitosane à partir des carapaces de crevettes: étude et caractérisations. [en ligne]. [Consulté le: 01/11/2020]. Disponible sur le web: <http://193.194.80.11/jspui/bitstream/123456789/2619/1/Pr%C3%A9paration%20de%20chitosane%20%C3%A0%20partir%20des%20carapaces%20de%20crevettes%20%C3%A9tude%20et%20caract%C3%A9risations.pdf>
- BENSEGUENI, A., BELKHIRI, A., BOULEBDA, N., KECK, G. (2007).** EVALUATION DE L'ACTIVITE CICATRISANTE D'UN ONGUENT TRADITIONNEL DE LA REGION DE CONSTANTINE SUR LES PLAIES D'EXCISION CHEZ LE RAT. *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*, [en ligne] 83-87. [Consulté le: 03/11/2020]. Disponible sur le web: <http://revue.umc.edu.dz/index.php/c/article/view/380>
- BRADFORD, M. M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), [en ligne] 248-254. [Consulté le: 27/10/2020]. Disponible sur le web:

[https://www.google.dz/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjn8\\_WXkYrtAhXuRRUIHZCZDpgQFjAAegQIBBAC&url=https%3A%2F%2Fwww.sciencedirect.com%2Fscience%2Farticle%2Fpii%2F0003269776905273&usg=AOvVaw3F51X MwqnZHN4Kck6te7sr](https://www.google.dz/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjn8_WXkYrtAhXuRRUIHZCZDpgQFjAAegQIBBAC&url=https%3A%2F%2Fwww.sciencedirect.com%2Fscience%2Farticle%2Fpii%2F0003269776905273&usg=AOvVaw3F51X MwqnZHN4Kck6te7sr)

**BREITENBACH, J., NOGUEIRA, M., FARRE, G., ZHU, C., CAPELL, T., CHRISTOU, P., SANDMANN, G. (2016).** Engineered maize as a source of astaxanthin: processing and application as fish feed. *Transgenic research*, 25(6), [en ligne] 785-793. [Consulté le: 27/10/2020]. Disponible sur le web: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11248-016-9971-3>

**BRITTON, G. (1995).** Structure and properties of carotenoids in relation to function. *The FASEB Journal*, 9(15), [en ligne] 1551-1558. [Consulté le: Disponible sur le web:

**BROUSSIGNAC, P. (1968).** Un haut polymère naturel peu connu dans l'industrie, Le chitosane. *Chim. Ind. Genie Chim*, 99, [en ligne] 1241-1247. [Consulté le: Disponible sur le web:

**BRÜCK, W. M., SLATER, J. W., CARNEY, B. F. (2010).** Chitin and chitosan from marine organisms. *Chitin, chitosan, oligosaccharides and their derivatives: biological activities and applications*. Taylor & Francis, Boca Raton, [en ligne] 11-19. [Consulté le: 23/11/2020]. Disponible sur le web: <https://www.taylorfrancis.com/books/9780429165931>

**CAILLAU, M. (2017).** *Nanotechnologie verte: des polymères de la biomasse comme résines éco-efficientes pour la lithographie*. [en ligne]. [Consulté le: 15/04/2020]. Disponible sur le web: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01661444/>

**CHENNET, M., NAIT YAHIA, L. (2015).** *Élaboration d'un composite à base de chitosane, Le poly-acide lactique et cloisite 30B par voie fondue*. [en ligne] Mémoire de master. Génie des procédés: polymère et composite, Université de Bejaia, Algérie. 111p. [Consulté le: 20/08/2020]. Disponible sur le web: <http://univ-bejaia.dz/jspui/handle/123456789/7887>

**COMPAGNONI, R., FERRARIS, G., ETFIORA, L. (1983).** Balangeroite, a new fibrous silicate related to gageite from Balangero, Italy. *American Mineralogist*, 68(1-2), [en ligne] 214-219. [Consulté le: 29/11/2020]. Disponible sur le web: <https://pubs.geoscienceworld.org/msa/ammin/article/68/1-2/214/41448>

**CONG, X.-Y., ZHANG, H.-Z. (2019).** Recent Progress in Sources, Biological Activity and Application of Astaxanthin. *International Journal of Sciences*, 8(03), [en ligne] 31-34. [Consulté le: 27/10/2020]. Disponible sur le web: <https://ideas.repec.org/a/adm/journal/v8y2019i3p31-34.html>

**CRINI, G. (2009).** *Chitine et chitosane: du biopolymère à l'application*. [en ligne]: Presses Univ. Franche-Comté [Consulté le: 27/10/2020]. Disponible sur le web: <https://books.google.com/books?hl=fr&lr=&id=LHK3ZGbdDHJMC&oi=fnd&pg=PA13&dq=Chitine+et+chitosane:+du+biopolym%C3%A8re+%C3%A0+l%27application&ots=urbXD1TQUU&sig=XiVMd1ZhfvLY0mP2eQEH6Te3WGk>

**CZECHOWSKA-BISKUP, R., JAROSINSKA, D., ROKITA, B., ULANSKI, P., ROSIAK, J. M. (2012).** Determination of degree of deacetylation of chitosan-comparison of methods. *Progress on Chemistry and Application of Chitin and its Derivatives*, 17, [en ligne] 5-20. [Consulté le: 24/11/2020]. Disponible sur le web: <http://yadda.icm.edu.pl/yadda/element/bwmeta1.element.psjd-9668be5e-5eca-4b30-8f83-12381cdf834e>

**DA COSTA CARDOSO, L. A. (2008).** *Identification de facteurs opératoires influents en vue d'une production microbienne optimale de torularhodine et de sa fonctionnalisation enzymatique, à partir d'études cinétiques*. [en ligne], Institut national polytechnique de Lorraine. [Consulté le: 02/12/2020]. Disponible sur le web: <https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01753061>

**DALEI, J., SAHOO, D. (2015).** Extraction and characterization of astaxanthin from the crustacean shell waste from shrimp processing industries. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(6), [en ligne] 2532-2537. [Consulté le: 15/05/2020]. Disponible sur le web: [http://www.academia.edu/download/37794144/Astaxanthin\\_published\\_paper.33-Vol.-6-Issue-6-June-2015-IJPSR-RA-4994-Paper-33.pdf](http://www.academia.edu/download/37794144/Astaxanthin_published_paper.33-Vol.-6-Issue-6-June-2015-IJPSR-RA-4994-Paper-33.pdf)

- DEFER, D., BOURGOUGNON, N., MCF, Y. F. (2009).** *Recherche d'activités antimicrobiennes chez des mollusques marins. Purification et caractérisation partielle de peptides antimicrobiens isolés à partir de l'hémolymphe de Crassostrea gigas et de bactéries associées.* [en ligne]. [Consulté le: 27/10/2020]. Disponible sur le web: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00485008/>
- DI MARIO, F., RAPANA, P., TOMATI, U., GALLI, E. (2008).** Chitin and chitosan from Basidiomycetes. *International Journal of Biological Macromolecules*, 43(1), [en ligne] 8-12. [Consulté le: 03/11/2020]. Disponible sur le web: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813007002395>
- DOBRIJEVIC, M., LE POSTOLLEC, A., BILLY, I. (2020).** Analyses XRF de plusieurs météorites. *Université de Bordeaux*, [en ligne]. [Consulté le: 27/10/2020]. Disponible sur le web: [https://www.researchgate.net/profile/Michel\\_Dobrijevic/publication/339295698\\_Analyses\\_XRF\\_de\\_plusieurs\\_meteorites/links/5e490294a6fdccd965a92612/Analyses-XRF-de-plusieurs-meteorites.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Michel_Dobrijevic/publication/339295698_Analyses_XRF_de_plusieurs_meteorites/links/5e490294a6fdccd965a92612/Analyses-XRF-de-plusieurs-meteorites.pdf)
- DUPASQUIER, F. (2011).** *Hydrogels physiques de chitosane pour la régénération in vivo du tissu cutané après brûlures du troisième degré.* [en ligne]. [Consulté le: 02/12/2020]. Disponible sur le web: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00830801/>
- EATON, P., FERNANDES, J. C., PEREIRA, E., PINTADO, M. E., MALCATA, F. X. (2008).** Atomic force microscopy study of the antibacterial effects of chitosans on Escherichia coli and Staphylococcus aureus. *Ultramicroscopy*, 108(10), [en ligne] 1128-1134. [Consulté le: 27/10/2020]. Disponible sur le web: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304399108000922>
- EL HOUDA, H. N. (2017).** Evaluation de la qualité organoleptique, hygiénique et nutritionnelle du tilapia du Nil Oreochromis niloticus (L., 1758), [en ligne]. [Consulté le: 27/10/2020]. Disponible sur le web: <http://193.194.80.11/jspui/bitstream/123456789/1715/1/Evaluation%20de%20la%20qualit%C3%A9%20organoleptique%2C%20hygi%C3%A9nique%20et%20nutri.pdf>
- FAO. (2018).** *La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture 2018. Atteindre les objectifs du développement durable.* [en ligne] Rome. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. [Consulté le: 03/05/2020]. Disponible sur le web: <http://www.fao.org/3/i9540fr/I9540FR.pdf>
- FAO. (2019).** *FAO yearbook. Fishery and Aquaculture Statistics 2017/FAO annuaire. Statistiques des pêches et de l'aquaculture 2017/FAO annuario. Estadísticas de pesca y acuicultura 2017.* [en ligne] Rome/Roma. [Consulté le: 03/05/2020]. Disponible sur le web: <http://www.fao.org/3/ca5495t/ca5495t.pdf>
- FERNANDEZ-KIM, S.-O. (2004).** Physicochemical and functional properties of crawfish chitosan as affected by different processing protocols, [en ligne]. [Consulté le: 02/12/2020]. Disponible sur le web: [https://scholar.google.com/scholar\\_url?url=http://digitalcommons.lsu.edu/cgi/viewcontent.cgi%3Farticle%3D2337%26context%3Dgradschool\\_theses&hl=fr&sa=T&oi=gsb-ggp&ct=res&cd=0&d=13443800142769168945&ei=wglIX534BdG1mAH93bfoAQ&scisig=AAGBfm3cx\\_JEKQT8FikxkqWptSKn4tynvA](https://scholar.google.com/scholar_url?url=http://digitalcommons.lsu.edu/cgi/viewcontent.cgi%3Farticle%3D2337%26context%3Dgradschool_theses&hl=fr&sa=T&oi=gsb-ggp&ct=res&cd=0&d=13443800142769168945&ei=wglIX534BdG1mAH93bfoAQ&scisig=AAGBfm3cx_JEKQT8FikxkqWptSKn4tynvA)
- FISCHER, W. (1987).** Méditerranée et mer Noire. *Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche, 1*, [en ligne] 334. [Consulté le: 15/05/2020]. Disponible sur le web: <http://www.fao.org/3/a-x0170f.pdf>
- FISHER, W., SCHNEIDER, M., BAUCHOT, M. (1987).** Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche. *Méditerranée et Mer noire. Zone de pêche, 37*, [en ligne] 1186-1189. [Consulté le: 24/11/2020]. Disponible sur le web: <https://ci.nii.ac.jp/naid/10018844246/>
- FLEURY, Y., DEFER, D., BOURGOUGNON, N. (2008).** Antimicrobial peptides and antiviral activities from marine fished or farmed animals. *Transworld Research Network, Kerala-India*, [en ligne] 163-196. [Consulté le: 04/11/2020]. Disponible sur le web: <https://www.google.dz/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2>

- ahUKEwjwsN-3tbHtAhXRiFwKHZH9BfQQFjACegQIAhAC&url=https%3A%2F%2Ftel.archives-ouvertes.fr%2Ftel-00485008%2Fdocument&usg=AOvVaw3Or\_vhSpBcIk5PMQ79yIWR
- FREEPONS, D. E. (1989).** Plant growth regulators derived from chitin. [en ligne]. [Consulté le: 13/05/2020]. Disponible sur le web: <https://patents.google.com/patent/US4812159A/en>.
- GANESAN, A. R., GURU, M. S., BALASUBRAMANIAN, B., MOHAN, K., LIU, W. C., ARASU, M. V., SEEDEVI, P. (2020).** Biopolymer from edible marine invertebrates: A potential functional food. *Journal of King Saud University-Science*, [en ligne]. [Consulté le: 21/04/2020]. Disponible sur le web: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1018364720300173>
- HAFSA, J., SMACH, M., CHARFEDDINE, B., LIMEM, K., MAJDOUB, H., ROUATBI, S. (2016).** Antioxidant and antimicrobial proprieties of chitin and chitosan extracted from *Parapenaeus Longirostris shrimp shell waste*. [en ligne]. In *Annales Pharmaceutiques Françaises*. [Consulté le: 05/11/2020]. Disponible sur le web: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003450915000875>
- HAJJI, S., GHORBEL-BELLAJ, O., YOUNES, I., JELLOULI, K., NASRI, M. (2015).** Chitin extraction from crab shells by *Bacillus* bacteria. Biological activities of fermented crab supernatants. *International Journal of Biological Macromolecules*, 79, [en ligne] 167-173. [Consulté le: 31/10/2020]. Disponible sur le web: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813015002652>
- HAMDI, M., HAJJI, S., AFFES, S., TAKTAK, W., MAALEJ, H., NASRI, M., NASRI, R. (2018).** Development of a controlled bioconversion process for the recovery of chitosan from blue crab (*Portunus segnis*) exoskeleton. *Food Hydrocolloids*, 77, [en ligne] 534-548. [Consulté le: 27/10/2020]. Disponible sur le web: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X17315412>
- HASSEN, I., FERCHICHI, B., MEDIMAGH, R. (2015).** EXTRACTION ET CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE D'ASTAXANTHINE ET DERIVES PAR ASE A PARTIR DE DECHETS DE CREVETTES, [en ligne]. [Consulté le: 02/12/2020]. Disponible sur le web: <http://www.instm.agrinet.tn/images/Bulltin/Bull.2015-N.Sp%C3%A9cial/22.pdf>
- HEUX, L., BRUGNEROTTO, J., DESBRIERES, J., VERSALI, M.-F., RINAUDO, M. (2000).** Solid state NMR for determination of degree of acetylation of chitin and chitosan. *Biomacromolecules*, 1(4), [en ligne] 746-751. [Consulté le: 27/10/2020]. Disponible sur le web: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/bm000070y>
- HIGUERA-CIAPARA, I., FELIX-VALENZUELA, L., GOYCOOLEA, F. (2006).** Astaxanthin: a review of its chemistry and applications. *Critical reviews in food science and nutrition*, 46(2), [en ligne] 185-196. [Consulté le: 27/10/2020]. Disponible sur le web: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408690590957188>
- IFREMER. (2010).** La valorisation des co-produits. [en ligne]. [Consulté le], Disponible sur le web: [http://bibliomer.ifremer.fr/documents/fiches/Coproducts\\_vf.pdf](http://bibliomer.ifremer.fr/documents/fiches/Coproducts_vf.pdf)
- INPN. (2020).** Muséum national d'Histoire naturelle [Ed]. 2003-2020. Inventaire National du Patrimoine Naturel. [en ligne]. [Consulté le: 20/05/2020], Disponible sur le web: <https://inpn.mnhn.fr>
- JOHNSON, H. (2002).** Perspectives de marché dans le secteur international du poisson et des fruits de mer. *Autres produits/usages et questions de salubrité alimentaire. Bureau du Commissaire au développement de l'aquaculture*, [en ligne]. [Consulté le: 25/04/2020]. Disponible sur le web: [https://www.google.dz/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjK96G\\_portAhXWGVkFHWrXAGgQFjAAegQIAhAC&url=https%3A%2F%2Fwaves-vagues.dfo-mpo.gc.ca%2FLibrary%2F272066.pdf&usg=AOvVaw3Rjafok-d1EuFP1jaDRXHn](https://www.google.dz/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjK96G_portAhXWGVkFHWrXAGgQFjAAegQIAhAC&url=https%3A%2F%2Fwaves-vagues.dfo-mpo.gc.ca%2FLibrary%2F272066.pdf&usg=AOvVaw3Rjafok-d1EuFP1jaDRXHn)
- KAVITHA, K., KOWSHIK, J., KISHORE, T. K. K., BABA, A. B., ETNAGINI, S. (2013).** Astaxanthin inhibits NF- $\kappa$ B and Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathways via inactivation of Erk/MAPK and PI3K/Akt to induce intrinsic apoptosis in a hamster model of oral cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1830(10), [en ligne] 4433-4444.

- [Consulté le: Disponible sur le: 20/11/2020 web:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304416513002286>
- KEFIL, S. (2020).** *Valorisation biotechnologique des coproduits de crevettes: Etude du pouvoir antimicrobien et anti-inflammatoire du chitosane.* Mémoire d'ingénieur et de master en sciences de la mer, option : Biotechnologie Marine, Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral. 70p.
- KHAN, F., PHAM, D. T. N., OLOKETUYI, S. F., MANIVASAGAN, P., OH, J., KIM, Y.-M. (2020).** Chitosan and their derivatives: Antibiofilm drugs against pathogenic bacteria. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 185, [en ligne] 110627. [Consulté le: 24/11/2020]. Disponible sur le web: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0927776519307714?via%3Dihub>
- KHERRAZ, A. (2006).** *Premières Données sur la Crevette Rouge, Aristeus antennatus (RISSO, 1816) de la région Oranaise. Biologie-Ecologie.* [en ligne], Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella. [Consulté le: 24/11/2020]. Disponible sur le web: <https://www.pnst.cerist.dz/detail.php?id=25384/>
- KHODJA, A. N., MAHLOUS, M., TAHTAT, D., BENAMER, S., YUCEF, S. L., CHADER, H., . . . MANSOURI, M. B. (2013).** Evaluation of healing activity of PVA/chitosan hydrogels on deep second degree burn: pharmacological and toxicological tests. *Burns*, 39(1), [en ligne] 98-104. [Consulté le: 02/12/2020]. Disponible sur le web: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0305417912001805>
- KIM, J. O., CHOI, J. Y., PARK, J. K., KIM, J. H., JIN, S. G., CHANG, S. W., . . . KIM, J.-A. (2008).** Development of clindamycin-loaded wound dressing with polyvinyl alcohol and sodium alginate. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 31(12), [en ligne] 2277-2282. [Consulté le: 24/11/2020]. Disponible sur le web: [https://www.jstage.jst.go.jp/article/bpb/31/12/31\\_12\\_2277/\\_article/-char/ja/](https://www.jstage.jst.go.jp/article/bpb/31/12/31_12_2277/_article/-char/ja/)
- KOECHLER, S. (2015).** *Le miel dans la cicatrisation des plaies: un nouveau médicament?* [en ligne], Université de Lorraine. 114p. [Consulté le: 04/12/2020]. Disponible sur le web: <https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01733645/document>
- KONE, K. P. F. O. (2018).** *Applications des techniques de chromatographie et de spectroscopie dans l'identification des métabolites secondaires de trois plantes antidiabétiques et antihypertensives de la pharmacopée ivoirienne.* [en ligne]. [Consulté le: 24/11/2020]. Disponible sur le web: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-02055347/>
- KRIS-ETHERTON, P. M., HARRIS, W. S., APPEL, L. J. (2002).** Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *circulation*, 106(21), [en ligne] 2747-2757. [Consulté le: 25/04/2020]. Disponible sur le web: <https://www.ahajournals.org/doi/abs/10.1161/01.CIR.0000038493.65177.94>
- KURITA, K. (2006).** Chitin and chitosan: functional biopolymers from marine crustaceans. *Marine Biotechnology*, 8(3), [en ligne] 203-226. [Consulté le: 19/10/2020]. Disponible sur le web: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s10126-005-0097-5.pdf>
- LE ROUX, K. (2012).** *Purification de la chitine par hydrolyse enzymatique à partir de coproduits de crevette Penaeus vannamei. Caractérisations des produits et optimisation du procédé.* [en ligne], Université de Nantes. [Consulté le: 05/11/2020]. Disponible sur le web: <https://archimer.ifremer.fr/doc/00087/19828/>
- LEE, S., CHOI, H., SUH, S., DOO, I.-S., OH, K.-Y., CHOI, E. J., LEE, Y. (1999).** Oligogalacturonic acid and chitosan reduce stomatal aperture by inducing the evolution of reactive oxygen species from guard cells of tomato and *Commelina communis*. *Plant physiology*, 121(1), [en ligne] 147-152. [Consulté le: 13/11/2020]. Disponible sur le web: <http://www.plantphysiol.org/content/121/1/147.short>
- LIU, Y., XING, R., YANG, H., LIU, S., QIN, Y., LI, K., LI, P. (2020).** Chitin extraction from shrimp (*Litopenaeus vannamei*) shells by successive two-step fermentation with *Lactobacillus rhamnoides* and *Bacillus amyloliquefaciens*. *International Journal of Biological Macromolecules*, [en ligne]. [Consulté le: 13/05/2020]. Disponible sur le web: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813019397156>

- LIU, Z., HOU, Y., HE, C., WANG, X., CHEN, S., HUANG, Z., CHEN, F. (2020).** Enhancement of linoleic acid content stimulates astaxanthin esterification in *Coelastrum* sp. *Bioresource Technology*, 300, [en ligne] 122649. [Consulté le: 27/10/2020]. Disponible sur le web: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852419318784>
- LORENZ TODD, R. (1998).** Thin-Layer Chromatography (TLC) system for Natu Rose Carotenoids. *Natu Rose Technical Bulletin*, 3, [en ligne] 1-3. [Consulté le: 20/10/2020]. Disponible sur le web: [https://www.google.dz/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiK8qWAt7HtAhVMVBUIHZNuDqsQFjAAegQIAxAC&url=http%3A%2F%2Fwww.bioline.org.br%2Fpdf%3Fse07014&usg=AOvVaw2TQelrO4FUyhke3WH\\_HiF\\_](https://www.google.dz/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiK8qWAt7HtAhVMVBUIHZNuDqsQFjAAegQIAxAC&url=http%3A%2F%2Fwww.bioline.org.br%2Fpdf%3Fse07014&usg=AOvVaw2TQelrO4FUyhke3WH_HiF_)
- MASSON, M. (2016).** *Synthèse bibliographique sur la faisabilité des sondes spectrophotométriques pour la caractérisation in situ de la matière organique*. [en ligne], irstea. [Consulté le: 22/09/2020]. Disponible sur le web: <https://hal.inrae.fr/hal-02605329>
- MECHEDDOU, C., BARR, K. (2018).** Valorisation des carapaces des crevettes dans la dépollution des eaux: Extraction du chitosane et optimisation des procédés, [en ligne]. [Consulté le: 08/10/2020]. Disponible sur le web: <http://193.194.80.38:8080/jspui/handle/123456789/4372>
- MEZITI, H. (2018).** *Evaluation de l'effet anti-inflammatoire et antioxydant des extraits de Malva parviflora L.* [en ligne]. [Consulté le 20/11/2020]. Disponible sur le web: <http://dspace.univ-setif.dz:8888/jspui/handle/123456789/2496>
- NATARAJAN, T. S., KALYANASUNDARAM, N., RAVI, S. (2017).** Extraction and Characterization of Chitin and Chitosan from Achatinodes. *NatProd Chem Res* 5: 281, [en ligne]. [Consulté le: 24/11/2020]. Disponible sur le web: <https://www.longdom.org/open-access/extraction-and-characterization-of-chitin-and-chitosan-from-achatinodes.pdf>
- NOËL, P. (2015).** La crevette rouge *Aristeus antennatus* (Risso, 1816). In: *Muséum national d'Histoire naturelle*. [en ligne] 18 juin 2015. Inventaire national du Patrimoine naturel. pp.1-6. [Consulté le: 12/11/2020]. Disponible sur le web: <http://inpn.mnhn.fr>
- NOUAR, A. (1985).** Contribution a l'étude de la crevette peneide *Parapenaeus longirostris* (Lucas, 1846) dans la region d'Alger: Ecologie-Biologie-Exploitation. *These Universite de Sciences et Technologie H. Boumediene (USTHB)*, [en ligne]. [Consulté le: 24/11/2020]. Disponible sur le web: [https://www.google.dz/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjnhqrJt7HtAhWZTRUIHd8DD\\_IQFjACegQIARAC&url=https%3A%2F%2Ftheses.univ-oran1.dz%2Fdocument%2FTH2570.pdf&usg=AOvVaw32DVz\\_NAtuVAtTRsea0bTz](https://www.google.dz/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjnhqrJt7HtAhWZTRUIHd8DD_IQFjACegQIARAC&url=https%3A%2F%2Ftheses.univ-oran1.dz%2Fdocument%2FTH2570.pdf&usg=AOvVaw32DVz_NAtuVAtTRsea0bTz)
- OLAIZOLA, M. (2008).** The production and health benefits of astaxanthin. *Marine nutraceuticals and functional foods. Nutraceuical Science and Technology*, . [en ligne]. New York: C.S.F. Barrow (Ed.).pp. 321-344. [Consulté le: 15/05/2020]. Disponible sur le web: [https://books.google.com/books?hl=fr&lr=&id=TjCH7snFkDcC&oi=fnd&pg=PA321&dq=OLAIZOLA,+M.,+.\(+2008\).+The+production+and+health+benefits+of+astaxanthin.+In:+C.S.F.+Barrow+\(Ed.\)+Marine+nutraceuticals+and+functional+foods.+Nutraceuical+Science+and+Technology,+New+York,+pp.+321-344.&ots=rjceipl2oA&sig=rHLYWXoO5njd-JyYLTdJt78R4hA](https://books.google.com/books?hl=fr&lr=&id=TjCH7snFkDcC&oi=fnd&pg=PA321&dq=OLAIZOLA,+M.,+.(+2008).+The+production+and+health+benefits+of+astaxanthin.+In:+C.S.F.+Barrow+(Ed.)+Marine+nutraceuticals+and+functional+foods.+Nutraceuical+Science+and+Technology,+New+York,+pp.+321-344.&ots=rjceipl2oA&sig=rHLYWXoO5njd-JyYLTdJt78R4hA)
- ONS. (2018).** Les principaux indicateurs du secteur de la pêche (2018), N°875, [en ligne]. [Consulté le: 07/04/2020]. Disponible sur le web: [https://www.ons.dz/IMG/pdf/indicateurs\\_peche2018.pdf](https://www.ons.dz/IMG/pdf/indicateurs_peche2018.pdf)
- OUELLET, D., N. RENAUD, M.-E. CARBONNEAU. (2015).** Portrait des caroténoïdes des coproduits de crustacés marins. *Merinov, Rapport de R-D no 15-03. 7 p*, [en ligne]. [Consulté le: 20/11/2020]. Disponible sur le web: [https://www.google.dz/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwirkyDuLHtAhUoRBUIHZbvBy0QFjAAegQIBRAC&url=https%3A%2F%2Fwww.merinov.ca%2Ffr%2Fapp-publication%3Ftask%3Dcallelement%26format%3Draw%26item\\_id%3D951%26element%3D5683814e-953d-40a2-8d2a-15d5ece9d966%26method%3Ddownload&usg=AOvVaw1KYQOtgiG\\_116f9s3BPo-Q](https://www.google.dz/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwirkyDuLHtAhUoRBUIHZbvBy0QFjAAegQIBRAC&url=https%3A%2F%2Fwww.merinov.ca%2Ffr%2Fapp-publication%3Ftask%3Dcallelement%26format%3Draw%26item_id%3D951%26element%3D5683814e-953d-40a2-8d2a-15d5ece9d966%26method%3Ddownload&usg=AOvVaw1KYQOtgiG_116f9s3BPo-Q)

- OULHIZ, A. (2018).** *Évaluation, valorisation et utilisation des coproduits de la crevette (Penaeus japonicus) et du thon rouge (Thunnus thynnus) pour l'alimentation du loup de mer d'élevage (Dicentrarchus labrax).* [en ligne], Université de Mostaganem-Abdelhamid Ibn Badis. [Consulté le: 15/05/2020]. Disponible sur le web: <https://www.pnst.cerist.dz/detail.php?id=67930>
- ÖZOGUL, F., HAMED, I., ÖZOGUL, Y., ETREGENSTEIN, J. M. (2018).** Crustacean By-products, [en ligne] 1-6 p. [Consulté le: 02/12/2020]. Disponible sur le web: [https://www.researchgate.net/publication/324847826\\_Crustacean\\_By-products](https://www.researchgate.net/publication/324847826_Crustacean_By-products)
- PHAN, T. H. (2014).** *Utilisation des caroténoïdes naturels de Momordica cochinchinensis (gac) comme composés santé: extraction et bioactivité en fonction de l'origine et du procédé.* [en ligne], Dijon. [Consulté le: 11/11/2020]. Disponible sur le web: <https://www.theses.fr/2014DIJOS087>
- RABEA, E. I., BADAWY, M. E.-T., STEVENS, C. V., SMAGGHE, G., STEURBAUT, W. (2003).** Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. *Biomacromolecules*, 4(6), [en ligne] 1457-1465. [Consulté le: 13/05/2020]. Disponible sur le web: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/bm034130m>
- RANDRIAMAHAODY, Z. (2011).** *Valorisation biotechnologique des co-produits de crevette: utilisation de la protéolyse enzymatique pour des applications avicoles à Madagascar.* [en ligne], Université d'Antananarivo. [Consulté le: 24/04/2020]. Disponible sur le web: <https://archimer.ifremer.fr/doc/00043/15456/>
- RAO, M., MUNOZ, J., STEVENS, W. (2000).** Critical factors in chitin production by fermentation of shrimp biowaste. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 54(6), [en ligne] 808-813. [Consulté le: 26/09/2020]. Disponible sur le web: <https://link.springer.com/article/10.1007/s002530000449>
- RESSEGUIER, P. (2016).** *Évaluation technico-financière d'une valorisation agroalimentaire des coproduits issus des usines de transformation de la crevette nordique en Gaspésie.* [en ligne], Université du Québec à Rimouski. [Consulté le: 12/11/2020]. Disponible sur le web: [http://semaphore.uqar.ca/id/eprint/1284/1/Paul\\_Resseguier\\_novembre2016.pdf](http://semaphore.uqar.ca/id/eprint/1284/1/Paul_Resseguier_novembre2016.pdf)
- RINAUDO, M., MILAS, M., LE DUNG, P. (1993).** Characterization of chitosan. Influence of ionic strength and degree of acetylation on chain expansion. *International journal of biological macromolecules*, 15(5), [en ligne] 281-285. [Consulté le: 02/12/2020]. Disponible sur le web: [http://www.academia.edu/download/47415410/0141-8130\\_2893\\_2990027-j20160721-15508-lkfr6.pdf](http://www.academia.edu/download/47415410/0141-8130_2893_2990027-j20160721-15508-lkfr6.pdf)
- RINTSANA, L. (2016).** CONTRIBUTION A LA VALORISATION DES DECHETS DE CRABE EN VUE DE PRODUIRE DU CHITOSANE: PAR PURIFICATION ENZYMATIQUE, [en ligne]. [Consulté le: 01/11/2020]. Disponible sur le web: [http://biblio.univ-antananarivo.mg/pdfs/rintsanaLudio\\_SN\\_MAST\\_16.pdf](http://biblio.univ-antananarivo.mg/pdfs/rintsanaLudio_SN_MAST_16.pdf)
- RMIKI, N.-E. (1999).** *Réponses photoadaptatives de la chlorophycée Haematococcus pluvialis floto et production d'astaxanthine.* [en ligne], Lille 1. [Consulté le: 02/12/2020]. Disponible sur le web: <https://www.theses.fr/1999LIL10026>
- SACHINDRA, N. M., BHASKAR, N., MAHENDRAKAR, N. S. (2005).** Carotenoids in different body components of Indian shrimps. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(1), [en ligne] 167-172. [Consulté le: 04/11/2020]. Disponible sur le web: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.1977>
- SAINI, R. K., MOON, S. H., KEUM, Y.-S. (2018).** An updated review on use of tomato pomace and crustacean processing waste to recover commercially vital carotenoids. *Food Research International*, 108, [en ligne] 516-529. [Consulté le: 12/11/2020]. Disponible sur le web: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996918302758>
- SALOMON, C. D. (1974).** A fine structural study on the extracellular activity of alkaline phosphatase and its role in calcification. *Calcified tissue research*, 15(1), [en ligne] 201-212. [Consulté le: 26/04/2020]. Disponible sur le web: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02059057>

- SANGSURIYAWONG, A., LIMPAWATTANA, M., SIRIWAN, D., KLAYPRADIT, W. (2019).** Properties and bioavailability assessment of shrimp astaxanthin loaded liposomes. *Food science and biotechnology*, 28(2), [en ligne] 529-537. [Consulté le: 15/05/2020]. Disponible sur le web: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10068-018-0495-x>
- SELLAL, A. H. (2018).** *Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits aqueux et éthanolique du gingembre Sous.* [en ligne]. [Consulté le: 23/11/2020]. Disponible sur le web: [https://scholar.google.com/scholar\\_url?url=http://dspace.univ-setif.dz:8888/jspui/handle/123456789/2568&hl=fr&sa=T&oi=gsb&ct=res&cd=0&d=15911296014784544152&ei=5mjIX622B4bcmAHI4qzQBg&scisig=AAGBfm3QSBXzBsoeLUVH9oD-G6nD1fUFTA](https://scholar.google.com/scholar_url?url=http://dspace.univ-setif.dz:8888/jspui/handle/123456789/2568&hl=fr&sa=T&oi=gsb&ct=res&cd=0&d=15911296014784544152&ei=5mjIX622B4bcmAHI4qzQBg&scisig=AAGBfm3QSBXzBsoeLUVH9oD-G6nD1fUFTA)
- SENE, T. (2008).** *Contribution à l'étude de la valorisation des co-produits de la sole tropicale (Cynoglossus senegalensis) après hydrolyse enzymatique.* [en ligne], Thèse de doctorat, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Dakar. [Consulté le: 14/11/2020]. Disponible sur le web: [https://www.google.dz/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwicoOqeq4rtAhXvGVkFHZrqA30QFjAAegQIAXAC&url=http%3A%2F%2Fwww.beep.ird.fr%2Fcollect%2Ffeismv%2Findex%2Fassoc%2FTD08-9.dir%2FTD08-9.pdf&usq=AOvVaw3tZklNyeBEoNbYLEBXYwh\\_](https://www.google.dz/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwicoOqeq4rtAhXvGVkFHZrqA30QFjAAegQIAXAC&url=http%3A%2F%2Fwww.beep.ird.fr%2Fcollect%2Ffeismv%2Findex%2Fassoc%2FTD08-9.dir%2FTD08-9.pdf&usq=AOvVaw3tZklNyeBEoNbYLEBXYwh_)
- SOWMYA, R., SACHINDRA, N. (2012).** Evaluation of antioxidant activity of carotenoid extract from shrimp processing byproducts by in vitro assays and in membrane model system. *Food Chemistry*, 134(1), [en ligne] 308-314. [Consulté le: 15/05/2020]. Disponible sur le web: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814612003627>
- TEIXEIRA, M. D. C., SANTINI, A., SOUTO, E. B. (2017).** Delivery of Antimicrobials by Chitosan-Composed Therapeutic Nanostructures. *Nanostructures for Antimicrobial Therapy*, [en ligne] 203-222. [Consulté le: 24/11/2020]. Disponible sur le web: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323461528000081?via%3Dihub>
- THARANATHAN, R. N., KITTUR, F. S. (2003).** Chitin—the undisputed biomolecule of great potential, [en ligne]. [Consulté le: 15/05/2020]. Disponible sur le web: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408690390826455>
- THIAM, N., PLOURDE, Y., FALL, M., SYLLA, M., THIAW, M., DEME, M., FAYE, B. (2015).** TEST DE LA GRILLE NORDMORE EN PECHE COMMERCIALE DE LA CREVETTE GAMBA PARAPENAEUS LONGIROSTRIS AU SENEGAL, [en ligne]. [Consulté le: 08/05/2020]. Disponible sur le web: [http://www.ceppeche.sn/document/CRODT/RAPPORT\\_TEST%20DE%20SELECTIVITE.pdf](http://www.ceppeche.sn/document/CRODT/RAPPORT_TEST%20DE%20SELECTIVITE.pdf)
- THOMPSON, J., COLLINS, M., MERCER, W. (1996).** Characterization of a proteinaceous antimicrobial produced by *Lactobacillus helveticus* CNRZ450. *Journal of applied bacteriology*, 80(3), [en ligne] 338-348. [Consulté le: 11/11/2020]. Disponible sur le web: <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2672.1996.tb03229.x>
- TOLAIMATE, A., DESBRIERES, J., RHAZI, M., ALAGUI, A., VINCENDON, M., VOTTERO, P. (2000).** On the influence of deacetylation process on the physicochemical characteristics of chitosan from squid chitin. *Polymer*, 41(7), [en ligne] 2463-2469. [Consulté le: 24/11/2020]. Disponible sur le web: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032386199004000>
- TRUONG, T., HAUSLER, R., MONETTE, F., NIQUETTE, P. (2007).** Valorisation des résidus industriels de pêches pour la transformation de chitosane par technique hydrothermo-chimique. *Revue des sciences de l'eau/journal of Water Science*, 20(3), [en ligne] 253-262. [Consulté le: 15/05/2020]. Disponible sur le web: <https://www.erudit.org/en/journals/rseau/1900-v1-n1-rseau1812/016170ar/abstract/>
- USHAKUMARI, U. N., RAMANUJAN, R. (2012).** Astaxanthin from shrimp shell waste. *International journal of pharmaceutical chemistry research*, 1(3), [en ligne] 1-6. [Consulté le: 27/10/2020]. Disponible sur le web: [http://www.academia.edu/download/32439554/ijpcr\\_205.pdf](http://www.academia.edu/download/32439554/ijpcr_205.pdf)

- WALDECK, J., DAUM, G., BISPING, B., MEINHARDT, F. (2006).** Isolation and molecular characterization of chitinase-deficient *Bacillus licheniformis* strains capable of deproteinization of shrimp shell waste to obtain highly viscous chitin. *Applied and environmental microbiology*, 72(12), [en ligne] 7879-7885. [Consulté le: 19/10/2020]. Disponible sur le web: <https://aem.asm.org/content/72/12/7879.short>
- WATERMAN, T. H., CHACE JR, F. A. (1960).** General crustacean biology. *The physiology of Crustacea, 1*, [en ligne] 1-33. [Consulté le: 16/11/2020]. Disponible sur le web: [https://www.researchgate.net/profile/Tomas\\_tom\\_Tomascik/post/is\\_this\\_a\\_prawn\\_or\\_an\\_anomuranlarvae/attachment/5b01bc314cde260d15dfd99c/AS%3A628221393502208%401526791060487/download/Anger+2001+The+biology+of+Decapod+Crustacean+Larvae.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Tomas_tom_Tomascik/post/is_this_a_prawn_or_an_anomuranlarvae/attachment/5b01bc314cde260d15dfd99c/AS%3A628221393502208%401526791060487/download/Anger+2001+The+biology+of+Decapod+Crustacean+Larvae.pdf)
- YASUI, Y., HOSOKAWA, M., MIKAMI, N., MIYASHITA, K., TANAKA, T. (2011).** Dietary astaxanthin inhibits colitis and colitis-associated colon carcinogenesis in mice via modulation of the inflammatory cytokines. *Chemico-biological interactions*, 193(1), [en ligne] 79-87. [Consulté le: 24/11/2020]. Disponible sur le web: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009279711002171>
- YUAN, J. P., PENG, J., YIN, K., EWANG, J. H. (2011).** Potential health-promoting effects of astaxanthin: A high-value carotenoid mostly from microalgae. *Molecular nutrition & food research*, 55(1), [en ligne] 150-165. [Consulté le: 19/11/2020]. Disponible sur le web: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/mnfr.201000414>
- ZARROUK, F. (2012).** LES STATISTIQUES INFÉRENTIELLES(test de Student). *ISSEP Ksar-Said*, [en ligne]. [Consulté le: 24/11/2020]. Disponible sur le web: [http://www.issep-ks.rnu.tn/fileadmin/templates/Fcad/Test\\_\\_de\\_Student.pdf](http://www.issep-ks.rnu.tn/fileadmin/templates/Fcad/Test__de_Student.pdf)
- ZHANG, L.-H., PENG, Y.-J., XIN, D. X., WANG, S.-N., YU, L.-M., HONG, Y.-M., MA, J.-P. (2015).** Determination of other related carotenoids substances in astaxanthin crystals extracted from *Adonis amurensis*. *Journal of oleo science*, 64(7), [en ligne] 751-759. [Consulté le: 11/11/2020]. Disponible sur le web: [https://www.jstage.jst.go.jp/article/jos/64/7/64\\_ess14203/\\_article/-char/ja/](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jos/64/7/64_ess14203/_article/-char/ja/)

# **Annexes**

**Annexes 01 :** Composition biochimique des coproduits de crustacés.

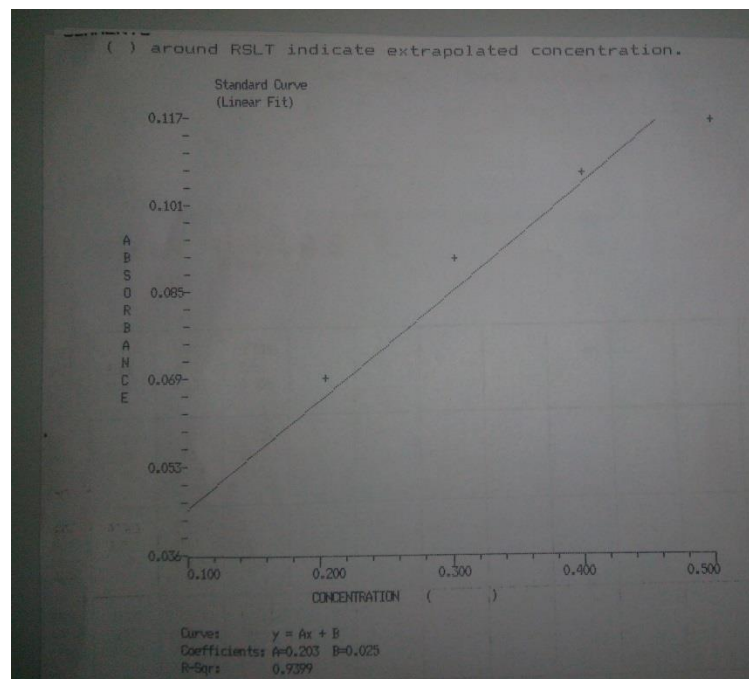


**Figure 1 :** Cendres des coproduits des crabes et de crevettes



**Figure 1 :** Lipides et les pigments extraits par la méthode de soxhlet

**Annexe 02 :** Courbe d'étalonnage.



**Figure 3 :** Courbe d'étalonnage des protéines

**Annexe 03 : Matériel utilisé pour la caractérisation biochimique**

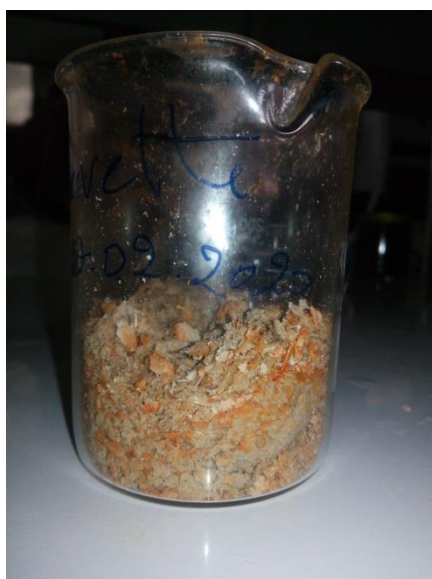


**Figure 4 : Spectrophotomètre UV-Visible**



**Figure 5 : Evaporateur rotatif**

**Annexe 04 : Résultats de l'extraction des pigments**



**Figure 5 : Blanchiment incomplet**

## ملخص

الهدف من هذا العمل هو اضافة قيمة الى المنتجات الثانوية لأنواع الجمبري الأكثر إنتاجاً في الجزائر ، وهي *Aristeus antennatus* و *Parapenaeus longirostris* ، ونوع من سرطان البحر *Liocarcinus depurator* الناتج عن الصيد التبعي . أظهرت نتائج التركيب البيوكيميائي للمنتجات الثانوية لسرطان البحر والجمبري أنها تتكون في الغالب من مواد معدنية (54% و 37%) و بروتينات (17% و 29%) على التوالي. أظهر تحليل مطياف الأشعة السينية أن المنتجات الثانوية هي مصدر طبيعي للمعادن ، خاصة الكالسيوم. وكذا الفوسفور والكلور والمغنيسيوم والكبريت والبوتاسيوم والسيليكون بأقل وفرة. تم استخلاص أستازانتين بطريقتين كيميائيتين ، الأولى بمزيج من المذيب (أسيتون / هكسان) والثانية باستعمال الميثانول. محصول استخلاص الأستازانتين يعادل (23.655 مكغ / غ و 17.4 مكغ / غ) على التوالي للمنتجات الثانوية للجمبري و (5.49 مكغ / غ و 3.675 مكغ / غ) على التوالي للمنتجات الثانوية لسرطان البحر. أظهرت نتائج التحليل الكيميائي بواسطة CCM للمستخلصات التي تم الحصول عليها بالطريقة الأولى وجود شريط أستازانتين واحد في الجزء 3 من الأصباغ المستخرجة من المنتجات الثانوية لسرطان البحر والجمبري. التحليل الطيفي لمستخلصي الميثانول للجمبري وسرطان البحر ، ذي اللون الأحمر والبرتقالي ، لهما نفس المظهر تقريباً مع ذروة عند 472 نانومتر بالنسبة للجمبري وعند 474 نانومتر بالنسبة لسرطان البحر ، والذي يتوافق مع طيف امتصاص الأستازانتين. المستخلصات التي تم الحصول عليها عن طريق الاستخراج (أسيتون / هكسان) لم تظهر أي نشاط مضاد ضد مسببات الأمراض التي تم اختبارها . بالنسبة لمستخلصات الميثانول للجمبري ، فقد أظهرت نشاطاً مثبطاً ضد *E.coli* و *Enterococcus aureus*، أما مستخلص سرطان البحر فقد لوحظ نشاط واحد فقط ضد بكتريا *S. aureus*. الجزئي الثاني المستخرج هو الشيتوزان . سمح الاستخلاص الكيميائي بالحصول على شيتوزان بكتلة محصول ودرجة نزع أسيتيل 9.6% و 80% للجمبري و 4% و 79% على التوالي لسرطان البحر. هذا البوليمر الحيوي له نشاط ممتاز مضاد للالتهابات ، أكبر من ديكلوفيناك التجاري (1%) ، بغض النظر عن أصله ، الجمبري (92.79% = PIO) أو سرطان البحر (81.08% = PIO). تشير الدراسة الأولية لنشاط الشفاء لحرق من الدرجة الثالثة بواسطة الكيتوزان الذي تم الحصول عليه من المنتجات الثانوية للجمبري ، إلى أن هذا المنتج يتمتع بقوة علاجية مثيرة للاهتمام للغاية مع تقليل الأسطح المحروقة بنسبة 28% بعد علاج لمدة 15 يوماً.

**الكلمات المفتاحية:** تثمين التكنولوجيا الحيوية ، المنتجات الثانوية للقشريات ، التركيبية الكيميائية العامة ، أستازانتين ، شيتوزان ، قدرة اللأم ، نشاط مضاد للالتهاب ، نشاط مضاد للميكروبات.

## Résumé :

L'objectif du présent travail consiste à valoriser les coproduits des espèces de crevettes les plus produites en Algérie qui sont *Aristeus antennatus* et *Parapenaeus longirostris*, et une espèce de crabe *Liocarcinus depurator* issue de la pêche accessoire. La caractérisation biochimique des coproduits de crabes et de crevettes a montré qu'ils sont majoritairement composés de cendres (54% et 37%) et de protéines (17% et 29%) respectivement. Une analyse par XRF a révélé que ces coproduits constituent une source naturelle de substances minérales, principalement le Calcium. Le phosphore, le chlore, le magnésium, le soufre et le potassium et le silicium sont à moindres abondance. L'extraction de l'astaxanthine a été faite par deux méthodes chimiques, la première est une extraction avec un mélange de solvant (acétone/hexane) et la seconde est une extraction méthanoïque. Les rendements d'extraction de l'astaxanthine étaient (23.655µg/g et 17.4µg/g) respectivement pour les coproduits de crevettes et (5.49µg/g et 3.675µg/g) respectivement pour ceux des crabes. La caractérisation chimique par CCM des extraits obtenus par la première méthode a révélé la présence d'une seule bande d'astaxanthine dans la fraction 3 des pigments extraits à partir des coproduits des crabes et de crevettes. L'analyse spectrale des deux extraits méthanoïques des crevettes et de crabes dont la couleur est rouge et orange, ont quasiment la même allure avec un pic à 472 nm pour celui des crevettes et à 474 nm pour celui des crabes, ce qui correspond au spectre d'absorption de l'astaxanthine. Les extraits obtenus par l'extraction (acétone/hexane) n'ont montré aucune activité antagoniste vis-à-vis des germes pathogènes testés. Quant aux extraits méthanoïques de crevettes, ils présentaient une activité inhibitrice vis à vis d'*E.coli* et d'*Enterococcus*, pour l'extrait de crabes une seule activité contre *S.aureus* a été observée. La deuxième molécule extraite est le chitosane. L'extraction chimique a permis d'obtenir un chitosane avec un rendement massique et un degré de désacétylation de 9.6% et 80% dans l'ordre pour les crevettes et 4% et 79% respectivement pour les crabes. Ce biopolymère possède une excellente activité anti-inflammatoire, supérieure à celle du Diclofénac commercial à 1%, et ce quel que soit son origine, crevette (PIO=92,79%) ou crabe (PIO= 81,08 %). L'étude préliminaire de l'activité cicatrisante d'une brûlure du 3<sup>ème</sup> degré par le chitosane obtenu des coproduits de crevettes, indique que celui-ci est doté d'un pouvoir cicatrisant très intéressant avec une réduction de 27% des surfaces brûlées après 15 jours de traitement.

**Mot clés :** valorisation biotechnologique, coproduits des crustacés, composition chimique globale, astaxanthine, chitosane, pouvoir cicatrisant, activité anti-inflammatoire, activité antimicrobienne.

## **Abstract**

The purpose of this study is to add value to the co-products of shrimps the most produced in Algeria which are *Aristeus antennatus* and *Parapenaeus longirostris*, in addition to crab *Liocarcinus depurator* derived from incidental fishing. Biochemical characterization of crab and shrimp co-products showed that they are mainly composed of ashes (54% and 37%) and proteins (17% and 29%) respectively. An analysis by XRF found that these co-products are a natural source of mineral substances, mainly Calcium. Phosphorus, Chlorine, Magnesium, Sulphur, Potassium and Silicon are less abundant. The extraction of Astaxanthin has been done by two chemical methods, the first is an extraction with a solvent mixture (acetone/hexane) and the second is a methanoic extraction. The Astaxanthin extraction yields were respectively (23.655µg/g and 17.4µg/g) for shrimp co-products and (5.49µg/g and 3.675µg/g) for crab co-products. The chemical characterization by TLC of the extracts obtained by the first method found out the presence of a single band of Astaxanthin in fraction 3 of the pigments extracted from the co-products of crabs and shrimps. The spectral analysis of the two methanoic extracts of shrimps and crabs with a red and orange colour have almost the same appearance with a peak at 472 nm for shrimps and at 474 nm for crabs, which corresponds to the absorption spectrum of Astaxanthin. The extracts obtained by extraction (acetone/hexane) did not show any antagonistic activity towards the tested pathogenic germs. As for the shrimp methanoic extracts, they showed inhibitory activity against *E.coli* and *Enterococcus*, for the crab extract only one activity against *S.aureus* was observed. The second molecule extracted was chitosan. The Chemical extraction resulted in a chitosan with a mass yield and degree of deacetylation of 9.6% and 80% into order for shrimp and 4% and 79% respectively for crab. This biopolymer has an excellent anti-inflammatory activity, superior to that of commercial diclofenac to 1%, whatever its origin, shrimp (IOP=92.79%) or crab (IOP= 81.08%). The preliminary study of the healing activity of a 3rd degree burn by chitosan obtained from by shrimp co-products pointed that it has a very interesting healing power with a 27% decrease of burnt areas after 15 days of treatment.

**Keywords:** Biotechnological valorization, shellfish co-products, global chemical composition, Astaxanthin, chitosan, healing power, anti-inflammatory activity, antimicrobial activity