

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 البحريتهينة 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 :

Valorisation biotechnologique des coproduits de crustacés : étude du pouvoir antimicrobien du chitosane et traitement d'une eau contaminée par *Legionella pneumophila*.

Présenté par :

GUESMI Khadidja

HENNOUS Melissa Doudja

Soutenu le 14/10/2021 devant le jury composé de :

M REFES W.	Professeur	(ENSSMAL)	Président.
Mme ALAMIR H.	Maître de recherches	(IPA)	Promotrice.
Mme AMROUCHE L.	Maître assistante A	(ENSSMAL)	Co-promotrice.
Mme KHELIFA N.	Maître de conférences B	(ENSSMAL)	Examinatrice.
Mr IGOUD S.	Maître de recherches	(UDES)	Examineur.
Mme BENABBOU A.	Chargée d'études (doctorante)	(IPA)	Invitée.

Année universitaire : 2020-2021

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 de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Hydrobiologie Marine et Continentale

Spécialité : biotechnologie marine

Thème :

Valorisation biotechnologique des coproduits de crustacés : étude du pouvoir antimicrobien du chitosane et traitement d'une eau contaminée par *Legionella pneumophila*.

Présenté par :

GUESMI Khadidja

HENNOUS Melissa Doudja

Soutenu le 14/10/2021 devant le jury composé de :

M REFES W.	Professeur	(ENSSMAL)	Président.
Mme ALAMIR H.	Maître de recherches	(IPA)	Promotrice.
Mme AMROUCHE L.	Maître assistante A	(ENSSMAL)	Co-promotrice.
Mme KHELIFA N.	Maître de conférences B	(ENSSMAL)	Examinatrice.
Mr IGOUD S.	Maître de recherches	(UDES)	Examineur.
Mme BENABBOU A.	Chargée d'études (doctorante)	(IPA)	Invitée.

Année universitaire : 2020-2021

Remerciements

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui nous voudrions témoigner toute notre gratitude.

Tout d'abord on adresse toute notre reconnaissance à nos promotrices. Mme ALAMIR H. d'avoir accepté d'encadrer ce travail. À Mme AMROUCHE L. pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils. Ainsi qu'à Mme BENABBOU A. pour son aide précieuse, ses conseils et de nous avoir fait part de ses connaissances sur les légionelles.

Tout comme nous adressons nos sincères remerciements à :

M. REFES W. de nous avoir honorés en acceptant de présider le jury.

M. IGOUD S. d'avoir mis à notre disposition son dispositif expérimental et d'avoir bien voulu examiner ce travail.

Mme KHELIFA N. d'avoir bien voulu examiner ce travail ainsi que pour ces valeureux conseils.

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

Mme FELLAH H., pour son aide et son orientation lors de l'identification de l'espèce.

Mme SAIBI N., ainsi que tout le personnel du service de bactériologie des eaux et des aliments de l'institut Pasteur.

M. ALI BILT de la pêcherie d'Alger pour nous avoir aidés lors de la collecte des échantillons des carapaces de crevettes.

M. BERKANE K. pour nous avoir facilités l'accès à la terrasse de l'IPA où ont eu lieu les expérimentations effectuées.

M. KELAI L. du CRAPC pour l'analyse du RMN et Mme KEFIL S. du SARL Casbah pour l'analyse de viscosité.

Mme DELLAL F. pour son aide et sa contribution.

On tient à remercier aussi toutes les personnes proches pour leur soutien constant : Amina, Bilal, Katia, Meriem, Nour, Sara, Yahia et Zaki.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

LISTE DES ABREVIATIONS

Introduction	2
---------------------------	----------

Chapitre I : Généralités

I.1. Généralités sur l'espèce utilisée	5
I.1.1. Répartition mondiale et nationale	5
I.1.2. Description générale et morphologie	5
I.1.3. Taxonomie et position systématique.....	6
I.2. Importance de la valorisation des coproduits de crustacés	7
I.3. Composition biochimique des coproduits de crustacés	9
I.3.1. La chitine et le chitosane.....	9
I.3.1.1. Définition et structure	9
I.3.1.2. Sources de la chitine et du chitosane	10
I.3.1.3. Propriétés de la chitine et du chitosane	11
I.3.1.3.1. Propriétés physico-chimiques	11
I.3.1.3.2. Propriétés biologiques.....	12
I.4. Extraction du chitosane à partir de coproduits de crevettes	12
I.4.1. La dépigmentation et délipidation	12
I.4.2. La déminéralisation.....	13
I.4.3. La déprotéinisation et la désacétylation	13
I.5. Potentiel du chitosane.....	13
I.5.1. Potentiel antibactérien et antifongique.....	13
I.5.2. Potentiel antioxydant	13
I.5.3. Applications du chitosane dans le traitement des eaux.....	14
I.6. Legionella pneumophila	14
I.6.1. Historique.....	14
I.6.2. Description générale	15
I.6.3. Ecologie du genre <i>Legionella</i>	15

I.6.4. Pouvoir pathogène	16
I.6.5. Diagnostique	17
I.6.6. Traitement de la légionellose	18
I.6.7. Lutte contre les légionnelles	18
I.6.7.1. La désinfection physique	18
I.6.7.2. La désinfection chimique	19

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Matériel	22
II.1.1. Matériel biologique.....	22
II.1.2. Matériel non-biologique	22
II.2. Collecte et traitement de la matière première	24
II.2.1. Récolte de la matière première	24
II.2.2. Prétraitement de l'échantillon.....	24
II.3. Détermination de la composition biochimique globale des coproduits des crustacés	25
II.3.1. Détermination de la teneur en eau	25
II.3.2. Détermination de la teneur totale en matière minérale.....	25
II.3.3. Détermination de la teneur en lipides totaux	26
II.3.4. Détermination de la teneur en protéines totales.....	28
II.3.5. Détermination de la teneur en sucres totaux (méthode DUBOIS modifiée)	29
II.4. Extraction du chitosane	30
II.4.1. Dépigmentation et délipidation	30
II.4.2. Déminéralisation.....	30
II.4.3. Déprotéinisation et désacétylation :.....	31
II.5. Caractérisation du Chitosane.....	31
II.5.1. Rendement massique du chitosane	31
II.5.2. Test de solubilité.....	32
II.5.3. Test de viscosité.....	32
II.5.4. Calcul du degré de déprotéinisation	32
II.5.5. Calcul du degré de déminéralisation	32
II.5.6. Mesure du degré de désacétylation par résonance magnétique nucléaire RMN H ¹ ..	33
II.6. Etude du pouvoir antibactérien (anti <i>Legionella pneumophila</i>) du chitosane	33

II.6.1. Revivification de la souche.....	33
II.6.1.1. Préparation du milieu de culture.....	33
II.6.1.2. La revivification	34
II.6.2. Méthode de diffusion sur disques	35
II.7. Décontamination d'une eau contaminée par <i>Legionella pneumophila</i>	37
II.7.1. Décontamination par les UV solaires (SODIS).....	37
II.7.2. Décontamination par photocatalyse en utilisant (TiO ₂).....	37
II.7.3. Décontamination aux chitosane- UV- solaires	39
II.7.4. Décontamination par chitosane-UV solaires-chauffage	40
II.7.5. Décontamination par évapo-concentration	41
II.8. Analyses microbiologiques des eaux traitées	41

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Identification de l'espèce.....	45
III.2. Composition biochimique globale des coproduits de crevettes	46
III.2.1. Taux d'humidité (Teneur en eau).....	46
III.2.2. Teneur en matière minérale :.....	47
III.2.3. Teneur en lipides	47
III.2.4. Teneur en protéines	47
III.2.5. Teneur en sucres.....	48
III.3. Caractérisation du chitosane produit	49
III.3.1. Rendement massique du chitosane produit	49
III.3.2. Solubilité	50
III.3.3. Viscosité	50
III.3.4. Poids moléculaire	51
III.3.5. Qualité du chitosane produit	52
III.3.5.1. Degrés de déminéralisation et de déprotéinisation	52
III.3.5.2. Degré de désacétylation du chitosane par résonance magnétique nucléaire RMN	53
III.4. Activité anti <i>Legionella pneumophila</i> du chitosane produit.....	55
III.5. Traitement d'une eau contaminée par <i>Legionella pneumophila</i>	56
III.5.1. Décontamination par évapoconcentration	56

III.5.2. Etude comparative des différentes méthodes de traitement d'une eau contaminée par <i>L.pneumophila</i>	58
---	----

Conclusion et perspectives.....	65
--	-----------

Références bibliographiques

Annexes

Liste des tableaux

Chapitre I : Généralités

Tableau 1. Sources potentielles de chitine	10
Tableau 2. Caractéristiques des maladies provoquées par <i>Legionella</i>	17

Chapitre II : Matériel et méthodes

Tableau 3. Appareils et réactifs utilisés.	22
---	----

Chapitre III : Résultats et discussion

Tableau 4. Critères distinctifs pour l'identification de <i>Parapenæus longirostris</i>	45
Tableau 5. Composition biochimique globale des carapaces des crustacés selon la littérature.	46
Tableau 6. Rendement massique (%) en chitosane obtenu à partir des coproduits de crevettes rapportés dans la littérature.	49
Tableau 7. Résultats de la viscosité dynamique de différentes solutions de chitosane.....	50
Tableau 8. Degrés de déminéralisation et de déprotéinisation du chitosane produit.	52
Tableau 9. Pouvoir anti- <i>Legionella pneumophila</i> du chitosane produit.	55
Tableau 10. Résultats de décontamination de l'eau par évapoconcentration.	56
Tableau 11 : Taux d'abattement des germes par évapo-concentration selon la littérature.	57
Tableau 12. Effet du chauffage sur l'efficacité des différentes méthodes de traitement des eaux contaminées par <i>L.pneumophila</i>	58
Tableau 13. Résultats de la décontamination par photolyse.	60
Tableau 14. Taux d'abattement de <i>L.pneumophila</i> selon les différentes méthodes de traitement.....	60
Tableau 15. Pourcentages moyens d'abattement de <i>L.pneumophila</i> selon les différentes méthodes de traitement (photocatalyse, SODIS avec et sans chauffage, chitosane-UV solaires avec et sans chauffage et poudre de crevette)	62

Liste des figures

Chapitre I : Généralités

Figure 1. Répartition géographique de <i>Parapenæus longirostris</i>	5
Figure 2. Aspect général de <i>Parapenæus longirostris</i>	6
Figure 3. Morphologie externe de <i>Parapenæus longirostris</i>	7
Figure 4 : Production de crevettes dans le monde,.....	8
Figure 5. Structure chimique de la chitine et du chitosane	10

Chapitre II : Matériel et méthodes

Figure 6. Broyage de la matière première	24
Figure 7. Séchage de la matière première	24
Figure 8. Tamisage de la poudre	24
Figure 9. Disposition de l'échantillon dans le four à moufle.....	26
Figure 10. Extracteur de Soxhlet.....	27
Figure 11. Préparation de la gamme étalon.....	29
Figure 12. Etape de délipidation et dépigmentation.....	30
Figure 13. (1) Déminéralisation sur plaque chauffante, (2) Mesure du pH,	30
Figure 14. Dispositif de déprotéinisation.....	31
Figure 15. Séchage du milieu de culture.....	34
Figure 16. Le supplément de croissance et le supplément sélectif.....	33
Figure 17. Schéma représentatif de l'ensemencement par épuisement.....	34
Figure 18. Schéma récapitulatif de l'activité antibactérienne (méthode des disques).....	36
Figure 19. Dispositif de décontamination par photolyse et par photocatalyse.....	38
Figure 20. Décontamination par photocatalyse, SODIS et chitosane-UV solaires.....	39
Figure 21. Décontamination par chitosane - UV solaires – chauffage.....	40
Figure 22. Principe de fonctionnement de l'évapoconcentrateur expérimental.....	41
Figure 23. Evapoconcentrateur posé au-dessus de deux plaques chauffantes	41
Figure 24. Coupe schématique d'un appareil de filtration sur membrane.....	42
Figure 25. (1) Membrane de filtration. (2). Dilutions (3). Incubation à 37°C.....	43

Chapitre III : Résultats et discussion

Figure 26. <i>Parapenæus longirostris</i> , (1) échantillon de la pêcherie d'Alger,(2) Schéma représentatif de <i>P. longirostris</i>	46
Figure 27. La composition biochimique des coproduits de crevette.....	48
Figure 28. Pesée du chitosane produit à partir de 200Gr de carapaces de crevettes.....	49
Figure 29. Solubilisation des chitosanes, (1) Extrait. (2) Commercial	50
Figure 30. Détermination de la viscosité intrinsèque du chitosane.....	51
Figure 31 : Déminéralisation du chitosane, a. creuset avant passage au four a moufle.....	53

Figure 32. Spectre RMN 1H du chitosane extrait.	54
Figure 33. Résultats du test anti- <i>Legionella pneumophila</i> du chitosane.....	56
Figure 34. Mise en évidence de l'élimination des légionnelles sur milieu gélosé après traitement des eaux contaminées par évapoconcentrateur (culture négative).	58
Figure 35. Taux d'abattement de <i>L.pneumophila</i> avec les méthodes incluant le chauffage	59
Figure 36. Taux d'abattement de <i>L.pneumophila</i> avec les différentes méthodes de traitement en fonction du rayonnement global.....	61
Figure 37. Pourcentages moyens d'abattement de <i>L.pneumophila</i> selon les différentes méthodes de traitement (photocatalyse, SODIS avec et sans chauffage, chitosane-UV solaires avec et sans chauffage et poudre de crevette)	62
Figure 38. Courbe d'étalonnage du dosage des sucres	83
Figure 39. Courbe d'étalonnage du dosage des protéines.....	83
Figure 40. Evaporateur rotatif.....	85
Figure 41. Four à moufle.....	84
Figure 42. Spectrophotomètre UV- visible	84
Figure 43. Viscosimètre NDJ-5.....	85
Figure 44. Séchage de la poudre de crevettes après déminéralisation	85
Figure 45. Schéma des réactions chimiques de désacétylation et dépolymérisation.	86

Liste des abréviations

ATCC : American Type Culture Collection ;

BSA : Bovin Serum Albumin ;

BCYE : BufferedCharcoalYeastExtract ;

Cs : Chitosane ;

Ct : Chitine ;

DA : Degré d'acétylation ;

DDA : Degré de désacétylation ;

DM : Degré de déminéralisation ;

DP : Degré de déprotéinisation ;

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

FAO: Food and Agriculture Organization;

GVPC : Glycine Vancomycine PolymyxineCycloheximide ;

IPA : Institut Pasteur d'Algérie ;

kDa: kilo Dalton;

McF: McFarland;

PET : Polyéthylène téréphtalate ;

pH : Potentiel d'hydrogène ;

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire ;

SODIS : Solar Désinfection ;

UV : Ultraviolets ;

UDES : Unité de Développement des Energies Solaires.

Introduction

Introduction

Face à une société tournée vers la surconsommation et un état écologique planétaire déplorable, de plus de plus de pays se tournent vers le développement durable. La minimisation des déchets est l'une des branches les plus importantes de ce concept. En effet l'élimination des déchets, qu'ils soient organiques (coproduits) ou inorganiques, représente un problème considérable, car une mauvaise gestion de ces derniers entraîne une accumulation de polluants aussi bien sur terre qu'en mer.

Selon le rapport sur la situation mondiale des pêches et de l'aquaculture, 34.2% des stocks mondiaux des produits de la mer sont surexploités (FAO, 2020). La production mondiale de crevettes est de 8.2 MT par an incluant la pêche et l'aquaculture (FAO, 2014), seul 30% du poids de la crevette fraîche est consommé directement sous forme de chair, ce qui revient à environ 5.74 MT de déchets organiques à traiter. Ces déchets représentent les coproduits, on y retrouve notamment la carapace, la tête et les appendices. Très riches en nutriments, Ils sont transformés et exploités pour leurs différentes propriétés.

A titre d'exemple, la farine de coproduits de crevettes est utilisée dans les élevages de salmonidés pour sa teneur élevée en caroténoïdes (RANDRIAMAHATODY, 2011). L'autolysat des têtes de crevettes, peut aussi être utilisé comme additif alimentaire de par leur richesse en protéines et en acides aminés libres à haute valeur nutritionnelle (CAO *et al.*,2008) ou pour ses propriétés antioxydantes (PERALTA *et al.* ,2008). Sans oublier le chitosane, dérivé de la chitine, un polysaccharide qui entre dans la composition des carapaces qui est doué d'activités biologiques variées, notamment antiallergique, antioxydante, antihypertensive, anticoagulante, antidiabétique, anti-obésité, anticancéreuse, anti-inflammatoire et antimicrobienne (KHAN *et al.*,2019 ; NATARAJAN *et al.*,2017) ;

Le chitosane est une molécule non toxique, biodégradable, non allergène et par conséquent inoffensive si elle est rejetée dans la nature (NATARAJAN *et al.* 2017 ; KHAN *et al.* 2019) ce qui pourrait présenter un atout majeur dans le traitement des eaux contaminées par différents germes pathogènes (CRINI, BADOT ET MORIN-CRINI .2019).

En Algérie, la production de la crevette est en troisième position après la pêche artisanale des petits pélagiques (76,8%) et des poissons démersaux, elle ne représente que 1.8% de la production halieutique totale (ONS,2018).

Même si la problématique de la surproduction de crevettes ne concerne pas le pays, celui-ci doit faire face au problème des eaux usées et les eaux potables contaminées notamment par les légionnelles posent un sérieux problème de santé public, d'autant plus qu'avec le confinement dû à la pandémie mondiale du Covid-19, et la fermeture des hôtels, les châteaux d'eau sont devenus de véritables réservoirs où pullule ce germe qui peut être responsable d'une pneumonie sévère, parfois mortelle.

L'objectif de cette étude est la valorisation de coproduits de crevettes plus précisément de *Parapenæus longirostris* (LUCAS, 1846) collectés au niveau de la pêcherie d'Alger, en chitosane (biotechnologie bleue) et l'exploitation de ce dernier dans le traitement d'une eau contaminée par *Legionella pneumophila* (biotechnologie jaune). D'autres méthodes de décontamination (SODIS, photocatalyse, évapoconcentration, systèmes hybrides) seront utilisées à titre comparatif.

Ce mémoire va se subdiviser en trois chapitres décrits ci-dessous :

- Le premier chapitre présente une description générale de la crevette *Parapenæus longirostris* (LUCAS, 1846), sa répartition à l'échelle mondiale et nationale, les propriétés physico-chimiques du chitosane et ses domaines d'utilisation. Il mettra aussi en évidence les données générales sur les légionnelles, sans oublier les méthodes de traitement des eaux contaminées par ce germe.
- Le deuxième chapitre traitera l'échantillonnage, l'identification et la caractérisation de l'espèce de crevette collectée au niveau de la pêcherie d'Alger, l'extraction du chitosane, sa caractérisation, ainsi que son utilisation dans la désinfection d'une eau contaminée par *Legionella pneumophila*. D'autres procédés sont utilisés visant l'élimination de ce germe.
- Le dernier chapitre est consacré à la présentation et la discussion des différents résultats expérimentaux observés.
- Enfin, ce manuscrit se terminera par une conclusion générale qui résumera les principaux résultats obtenus.

Généralités

I.1. Généralités sur l'espèce utilisée

Une seule espèce a fait l'objet de cette étude : *Parapenæus longirostris*

I.1.1. Répartition mondiale et nationale

Parapenæus longirostris 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)

Elle est retrouvée dans tout le bassin méditerranéen, et elle est également répandue dans l'Atlantique oriental ; de l'Angola au Portugal (CROSNIERET FOREST, 1973 ; HOLTHUIS, 1980 ; SOBRINO et CARDENAS, 1996) et dans l'Atlantique occidental ; des Guyanes au Massachusetts (USA) (HOLTHUIS, 1987). (Figure1.)

Elle est présente dans toute la méditerranée, à l'exception des côtes françaises et la mer Adriatique où elle est rare. (E.U.) (FISCHER, 1987).

En Algérie, *P.longirostris* est retrouvée au niveau du bord supérieur du plateau continental et du talus continental à partir de 100 mètres de profondeur. Elle est fréquente et abondante entre 150 et 300 mètres de jour et de 100 à 300 mètres de nuit (GRIMES et al, 2004).



Figure 1. Répartition géographique de *Parapenæus longirostris* (LUCAS, 1846) (FAO, 2020).

I.1.2. Description générale et morphologie

Parapenæus longirostris (LUCAS, 1846) présente, en général, une coloration beige plus ou moins nacré, le rostre est de couleur plus foncée, ainsi que les pattes, les articulations, des appendices et le telson (Figure 2).

La coloration est rose rouge chez les individus qui viennent de muer. La carapace des femelles dépasse souvent 27 mm et peut atteindre 41,5 mm ; celle des mâles mesure généralement plus de 25 mm et atteint 38 mm ; La carène post-rostrale est haute et tranchante (BENKABOUCHE, 2015). Le nombre de dents du rostre est compris entre 6 et 10, dans 30% des cas (MORI et al, 2000).



Figure 2. Aspect général de *Parapenaeus longirostris* (LUCAS, 1846).

I.1.3. Taxonomie et position systématique

Appartenant à l'ordre des Décapodes (LATREILLE, 1802) et le sous ordre des Natantia (BURKENROAD, 1963), ce dernier comprend trois principaux infra-ordres : Penaeidea, Stenopodidea et Caridea.

Pour sa part, l'infra-ordre des Penaeidea se distingue par plusieurs caractères, dont les pleurons du second segment abdominal qui recouvre ceux du troisième, ainsi que la présence de petites pinces aux trois premières paires de pattes. On note aussi la présence d'épines sur le bord supérieur du rostre, l'œil est sans tubercule, bien marqué sur le pédoncule, mais avec une écaille à sa base (Figure 3).

Les Penaeidea (RAFINESQUE, 1815) se composent de trois familles dont celle des Penaeidae qui se caractérise par un rostre robuste, la présence de plusieurs branchies, et cinq paires de péréiopodes bien développées munies de pinces pour les trois premières (BENKABOUCHE, 2015).

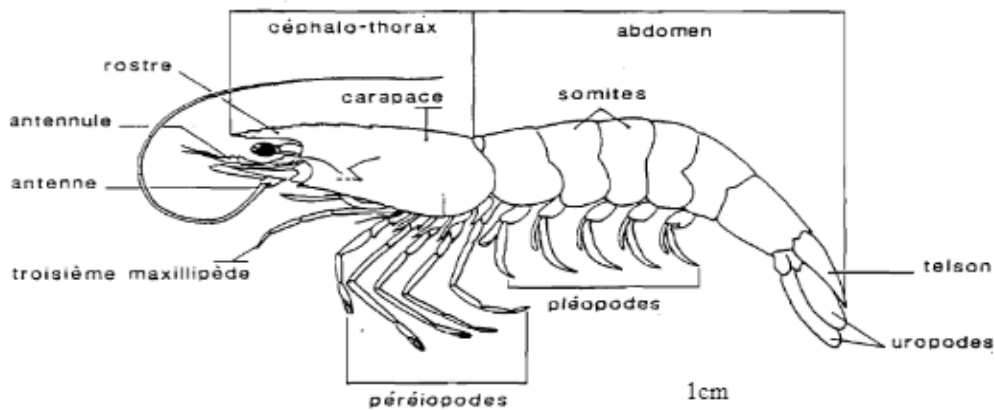


Figure 3. Morphologie externe de *Parapenæus longirostris* (LUCAS, 1846)

La taxonomie sommaire de l'espèce étudiée est la suivante :

- Règne : Animal.
- Embranchement : Arthropodes
- Sous Embranchement : Antennates
- Classe : Crustacés (Pennant,1777)
- Sous Classe : Malacostracés (Grobber, 1892)
- Super Ordre : Eucaridés (Calman,1904)
- Ordre : Décapodes (Latreille, 1802)
- Sous Ordre : Natantia (Burkenroad, 1963)
- Infra Ordre : Penaeidea (Rafinesque, 1815)
- Super Famille : Penaeidea (Rafinesque, 1815)
- Famille : Penaeidae (Rafinesque, 1815)
- Genre : Parapenæus (Smith, 1885)
- Espèce : *Parapenæus longirostris* (Lucas, 1846)

I.2. Importance de la valorisation des coproduits de crustacés

La hausse de la consommation des crustacés, principalement la crevette était marquée avant la crise de 2009. La consommation mondiale est passée de 0,4 kg/hab en 1961 à 1,6 kg/hab en 2005. La crevette est la première valeur échangée parmi les produits marins. Sa production annuelle mondiale était estimée à plus de 6 Mt en 2005.

La région Asie-Pacifique, et notamment la Chine, la Thaïlande, le Vietnam, l'Indonésie et l'Inde, est la principale productrice, totalisant près de 88 % des productions (FAO, 2009 ; GLOBEFISH, 2011). Les exportations de crevettes atteignent 14 milliards de dollars par an, soit 16 % des produits marins.

La part de l'aquaculture représente 70 % de la production mondiale de crevettes et plus généralement 76 % pour l'ensemble des crustacés (FAO, 2006). Cependant, la répartition entre l'aquaculture et la pêche de crevettes est très inégale selon la région du globe (Figure 4.)

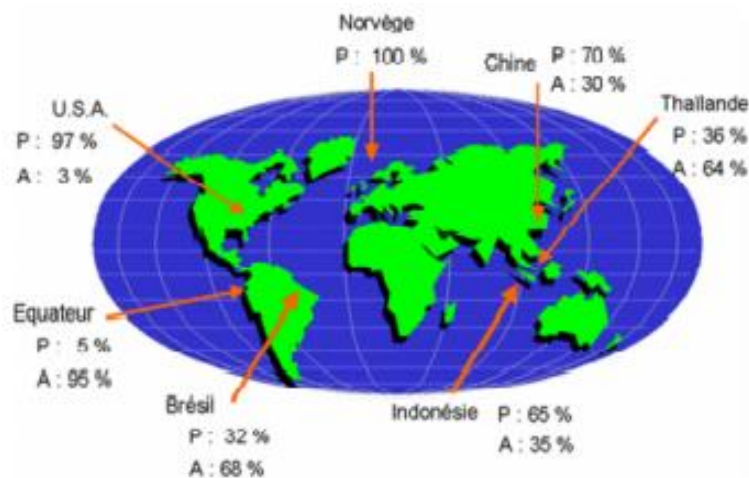


Figure 4 : Production de crevettes dans le monde, répartition entre la pêche (P) et l'aquaculture (A), (FAO, 2006).

L'augmentation de la consommation des crustacés entraîne une augmentation du volume de leurs coproduits. Les coproduits de crustacés représentent plus de 60 % du poids frais (WANG et al. 2011).

La valorisation de ces coproduits, qui sont essentiellement des carapaces récupérables après décorticage de la crevette, est importante vu leur richesse en 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). On parle de déchet lorsqu'aucune voie de valorisation n'existe et que le sous-produit doit être détruit (ANDRIEUX, 2004).

Des plateformes de décorticage de crevettes existent notamment au Maroc et en Asie. Leur principale voie de valorisation est la production de chitine, l'un des composés majoritaires des cuticules de crustacés (LE ROUX, 2012).

I.3. Composition biochimique des coproduits de crustacés

Les coproduits des crustacés sont une source précieuse de plusieurs molécules de haute valeur tels que les pigments d'astaxanthine et de caroténoïdes, les petits peptides à activité antimicrobienne, les minéraux et vitamines, les acides gras polyinsaturés de la série oméga 3 et oméga 6, la chitine et le chitosane. Ces biomolécules ont des applications dans différents domaines en diététique, nutraceutique, pharmaceutique et en cosmétique (JOHNSON, 2002). Dans la présente étude, une attention toute particulière est accordée à la chitine et le chitosane.

I.3.1. La chitine et le chitosane

Henri BRACONOT décrit pour la première fois en 1811 la molécule de chitine (Ct), et depuis elle a fait l'objet de plusieurs recherches.

C'est un biopolymère biodégradable, non toxique et biocompatible (CAMPANA, SIGNINI, 2001), Après la cellulose, c'est le deuxième biopolymère naturel le plus abondant dans la nature (SHAHIDI et al, 1999 ; WEBER, 2000 ; ROLLAND, MUMPER, 2001). Ce polymère (Ct) est traditionnellement extrait à partir des carapaces des crustacés depuis les années 70, pour des domaines d'application variés, tels que la pharmaceutique, la cosmétique, la diététique et le traitement des eaux. (TAOUINT, 2016).

Selon TEISSERDRE et BORNET (2005), C'est en 1859, lors d'une expérimentation que Charles ROUGET, en portant à ébullition une solution de chitine avec de l'hydroxyde de potassium, a obtenu un biopolymère soluble dans les acides organiques nommé "chitosane" (Cs).

I.3.1.1. Définition et structure

La chitine est un polymère linéaire qui a une structure similaire à la cellulose, mais c'est un amino-polysaccharide ayant des groupements acétamides en position C-2 à la place des hydroxyles. Sa structure chimique est un enchainement d'unités monomères N-acétyl- β -D-glucopyranose reliées par une liaison glycosidique β -(1-4) (TAOUINT, 2016) (Figure 5).

Dans sa structure, la chitine est souvent liée aux autres constituants majeurs de la carapace, formant des liens covalents avec les protéines et une matrice complexe renfermant du carbonate et du phosphate de calcium (MUZZARELLI, 1977).

La désacétylation de la chitine en milieu basique permet la formation du chitosane. Ce biopolymère a des caractéristiques structurales uniques. C'est un copolymère linéaire cationique constitué de deux monomères (80% de poly (GlcN) et 20% de poly (GlcNAc), liés entre eux par la liaison β -1-4) (Figure 5).

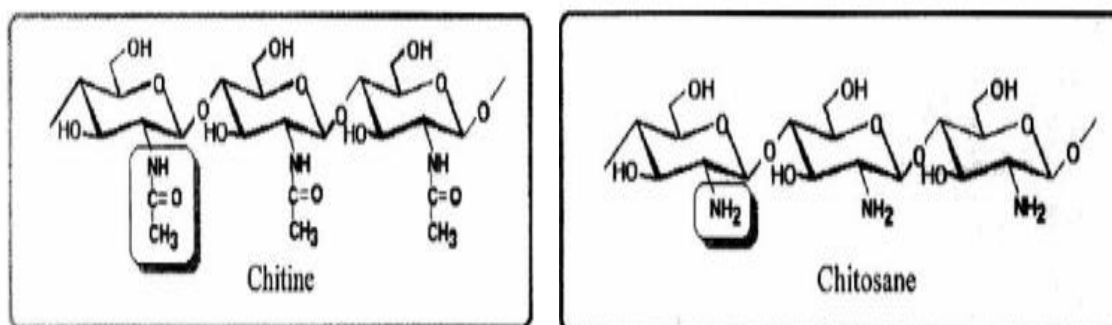


Figure 5. Structure chimique de la chitine et du chitosane (LE ROUX, 2012)

I.3.1.2. Sources de la chitine et du chitosane

La chitine est un polysaccharide naturel, qui constitue un élément structural important chez plusieurs espèces, animales et végétales. Elle est présente dans les téguments des invertébrés, dans les cuticules des insectes, dans les coquilles de mollusques et dans la carapace des crustacés (RINAUDO, 2006, CRINI et al, 2009).

Chez les végétaux, en raison de son rôle dans le maintien de la rigidité des cellules et le contrôle de la pression osmotique, la chitine se trouve dans la paroi des champignons et de certaines algues chlorophycées (Tableau 1).

Tableau 1. Sources potentielles de chitine (CRINI et al. 2009)

Sources	Sites de présence	Teneur en chitine (en %)
Arthropodes : • Crustacés • Insectes • Arachides	Exosquelette, cuticules, membranes	2-72
Mollusques : • Seiche • Pieuvre/calmars	Coquilles, stomacales, dents, plaques, plumes.	6-40
Polyplacophores	Tube	33
Cnidaires	Capsules d'œufs, membranes.	3-30
Annélides : • Sangsue • Lombric	Soies	0.2-38
Brachiopodes	Cuticules, coquilles.	4-29
Champignons	Paroi cellulaire, tige, spores.	/
Algues	Paroi cellulaire.	Faible

I.3.1.3. Propriétés de la chitine et du chitosane

I.3.1.3.1. Propriétés physico-chimiques

a. Degré de N-acétylation

« Chitine » peut être considérée comme le terme générique pour les amino-polysaccharides composés d'unités de N-acétyl- β -D-glucosamines (NacGlu ou A), à hauteur de 50 à 100 %, et de D-glucosamines (Glu ou D), la fraction complémentaire. Les unités sont reliées entre elles par des liaisons $\beta(1-4)$ et les groupements N-acétyles sont fixés au C-2 (TOKURA et TAMURA, 2007).

Une chitine parfaite posséderait un degré d'acétylation (DA) de 100 % tandis que le chitosane, son dérivé désacétylé idéal, aurait un DA de 0 % (ou un degré de désacétylation, DD, de 100 %), si la désacétylation était complète. Dans la nature, ces deux extrêmes n'existent pas, la forme la plus courante est une chitine de DA de 85-95 %, rarement moins (LE ROUX, 2012) (Figure 5).

b. Solubilité dans l'acide acétique

La densité de charge de la chitine implique son caractère hydrophobe. Par conséquent, elle n'est pas soluble dans les solvants classiques (LE ROUX, 2012). Elle est soluble dans les acides concentrés à chaud, et dans certains solvants toxiques tel que l'Hexafluoroisoacétone sesquihydrate, Hexafluoroisopropanol et l'acide dichloroacétique. Par contre ces derniers dégradent la structure de la chitine et du chitosane et leur utilisation est dangereuse pour l'opérateur (HSIAO et al., 2004).

Le chitosane est soluble dans les solvants acides, généralement, les plus courants sont des mélanges à base d'acide acétique et d'acétate de sodium (KASAIAI, 2007).

c. Viscosité

La viscosité du chitosane augmente avec l'augmentation de la solubilité de ce polymère. La solubilité est importante lorsque le DD est important, et donc le nombre de groupements amines libres. Elle dépend donc du DD du Cs.

Le Cs forme des gels avec un certain nombre d'anions multivalents et également avec le glutaraldéhyde (SUHEYLA KAS, 1996).

d. Poids moléculaire

Le poids moléculaire d'un agent polymérique coagulant est considéré comme étant une des caractéristiques les plus importantes affectant la fonctionnalité du polymère en question

(TAOUINT, 2016). La diminution du poids moléculaire du (Cs) est liée à sa dégradation (FELT et al., 1999).

La masse moléculaire du (Cs) est souvent élevée comme tous les polysaccharides, elle varie entre 100 et 1000 kDa (GUTIERREZ-MARTINEZ *et al.* 2018).

I.3.1.3.2. Propriétés biologiques

a. Biodégradabilité

La chitine est biodégradable, elle est hydrolysée par une série d'enzymes telles que les chitinases, le lysozyme et les glucanases (KRAJEWSKA, 2005). Le lysozyme, une enzyme présente dans l'intestin humain, est produite également par les macrophages pendant la cicatrisation des plaies et dans certains cas par les bactéries du colon (HALIM *et al.* 2011).

Cette enzyme hydrolyse le (Cs) en oligomères dans le sang et les tissus, sans accumulation dans le corps (OULHIZ, 2018).

b. Biocompatibilité et cytocompatibilité

Lorsque les cellules du corps et les tissus acceptent une molécule, elle est dite biocompatible (HALIM *et al.* 2011). Le chitosane est biocompatible et biorésorbable. Il possède un caractère anti-thermogénique, hémostatique et anti tumorale (CRINI et al. 2009). Cette biocompatibilité est liée au fait que les liaisons glycosidiques et les résidus N-acétyl-glucosamine qui sont les plus abondants constituants du (Cs) se retrouvent dans la structure des matrices extracellulaires de la plupart des tissus vivants (TAOUINT, 2016).

I.4. Extraction du chitosane à partir de coproduits de crevettes

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

I.4.1. La dépigmentation et délipidation

Le pigment dans les carapaces de crustacés forme un complexe avec la chitine (OULHIZ, 2018). Il peut être éliminé par de l'éthanol ; l'éther (Young et al. 2007) ou par le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ (BRINE ET AUSTIN, 1981 ; MOORJANI et al, 1975), afin d'augmenter la pureté du chitosane produit.

I.4.2. La déminéralisation

Elle implique l'élimination des minéraux présents dans les carapaces de crevettes. Un traitement acide permet le passage des minéraux en solution sous forme de sels.

Le traitement se fait avec l'acide hydrochloridrique (HCl), la concentration minimale pour effectuer cette étape est déterminée par l'équation chimique de la réaction entre l'élément minéral majoritaire, le carbonate de calcium, et le HCl. En principe, la déminéralisation est complète dès lors où les proportions sont stœchiométriques (TOLAIMATE et *al.* 2003 ; AL SAGHEER et *al.* 2009 ; LE ROUX, 2012).

I.4.3. La déprotéinisation et la désacétylation

L'opération consiste à éliminer les protéines liées à la chitine d'une part et à arracher les groupements acétyles d'autre part. Elle peut être exécutée en une seule étape ou en deux étapes distinctes, cela dépend de la concentration du solvant, de la température et la durée du traitement.

Celui-ci se fait avec une base forte comme l'hydroxyde de sodium (NaOH) ou l'hydroxyde de potassium (KOH). Différentes concentrations ont été testées. La température est comprise entre 50 et 110 °C et la durée peut varier de 1 h à plus de 24 h (TOLAIMATE et *al.* 2003 ; AL SAGHEER et *al.* 2009). Ces deux paramètres sont liés, ainsi la durée doit être augmentée si la température est baissée, et réciproquement.

I.5. Potentiel du chitosane

I.5.1. Potentiel antibactérien et antifongique

Le chitosane est antibactérien et antifongique (HIRANO et HORIUCHI, 1989 ; ALLAN et HADWIGER 1979). Le mode d'action du chitosane repose sur son interaction avec les membranes des cellules microbiennes (SHAHIDI et *al.* 1999).

I.5.2. Potentiel antioxydant

Les films alimentaires à base de dérivés de chitine (Ct) sont à la fois une barrière physique et biologique contre les flores d'altération et les contaminations extérieures. Ces films alimentaires sont également des antioxydants (JEON et *al.* 2002). Cette propriété est liée à la présence de deux groupes hydroxyles, en C-3 et C-6 (LE ROUX, 2012).

I.5.3. Applications du chitosane dans le traitement des eaux

Du fait de leur forte densité de charge, les dérivés de chitine sont capables d'interagir avec les MES, les microorganismes et les ions métalliques (TABOADA, 2003).

En utilisant du chitosane comme flocculant pour le traitement des eaux usées, des réductions de 70 à 98 % de la teneur en MES (matière en suspension, responsable de la turbidité) et de 55 à 80 % la demande chimique en oxygène (DCO) ont été observées (JUN et *al.* 1994, CRINI, 2009).

Cette propriété est utilisée pour piéger les composés dangereux et pour les éliminer ou les doser (CAMCI-UNAL et POHL, 2010 ; SKORIK et *al.* 2010).

I.6. Legionella pneumophila

I.6.1. Historique

En 1976 alors qu'une épidémie de grippe d'origine porcine (H₁N₁) menaçait la prospérité des états unis, la section d'American Legion locale de Williams town située au nord de la Philadelphie préparait le 58^{ème} congrès de la légion de l'état de Pennsylvanie. Il allait avoir lieu à l'hôtel Stratford-Bellevue, celui-ci doté d'un système de climatisation qui devenait défaillant, et 600 des 4400 participants allaient y séjourner.

Après 2 jours de l'ouverture du congrès, le 23 Juillet, trois clients commencèrent à souffrir de maux de gorge et des douleurs lancinantes, et d'autres légionnaires ne purent assister au bal de clôture, préférant se reposer dans leurs chambres suspectant un rhum.

Le 27 juillet, après le retour des légionnaires à leurs domiciles respectif, la première victime de ce mal encore inconnu fut annoncée, la seconde fut hospitalisée, le médecin suspectaient une pneumonie sévère, suivi de 73 autres participant, tous ayant reçu des diagnostics différents. Au bout de 6 jours, 25 d'entre eux ont rendu l'âme.

David FRASER, jeune médecin diplômé de Harvard y vit l'occasion de se démarquer, David SENCER directeur du CDC (Center for Disease Control and Prevention) organisa une réunion qui déboucha sur deux hypothèses : soit c'était une épidémie de grippe soit une nouvelle infection due à un germe inconnu.

Après 2 jours, soit le 4 août les premiers tests ont débutés par une équipe dirigée par FRASER, ils en ont vite conclu que l'hôtel Bellevue était la source de cette catastrophe, il fut fermé aussitôt. Une série de prélèvements y furent effectués dans le hall et l'ascenseur, ils y descellerent la présence de carbonyle de nickel, cependant ce n'était pas ce qui avait provoqué la maladie. L'hypothèse de la grippe porcine elle aussi fut éliminée.

Après des semaines d'investigation et des centaines de tests effectués sans résultats, Joe MCDADE se repencha sur un échantillon préparé au mois d'août, le foie d'un cobaye inoculé avec des échantillons pulmonaires de l'une des victimes, il y vit une bactérie qu'il n'avait pas observé initialement, il procéda alors à l'inoculation d'œufs embryonnés sans y injecter d'antibiotiques, les embryons ont rendu l'âme quelques jours après. C'est ainsi qu'en janvier 1977 après de longues et pénibles recherches, que fut découverte une nouvelle bactérie « *Legionella pneumophila* »

I.6.2. Description générale

Les légionnelles sont des bacilles aérobies strictes, à Gram négatif, dont la taille varie de 0.3 à 0.9 µm de large avec 2 µm de long. Elles sont dotées majoritairement d'un ou plusieurs flagelles en position polaire ou latérale permettant la locomotion (STOUT, 2003). Le genre *Legionella* est subdivisé en 53 espèces comprenant 70 sérogroupes (JAMAILOU, 2012), ces derniers sont identifiables grâce aux antigènes O portés sur les lipopolysaccharides pariétaux. Les légionnelles sont des bactéries exigeantes, elles puisent le carbone dont elles ont besoin des acides aminés, principalement la L-cystéine et la méthionine. Ce sont des bactéries à catalase positive, à oxydase négative, uréase négative et non réductrices de nitrates.

La taxonomie sommaire de ce germe est la suivante :

Phylum : Protéobacteria

Ordre : Legionellales

Famille : Legionellaceae

Genre : *Legionella*

Espèce : *Legionella pneumophila*

I.6.3. Ecologie du genre *Legionella*

Les légionnelles sont des bactéries hydriques intracellulaires poussant à l'intérieur même des cellules protozoaires, des amibes et des cyanobactéries dans l'environnement, et dans les cellules macrophages chez l'homme. Elles se développent dans des environnements chauds (mésophiles) et humides, elles peuvent résister à une importante élévation de la température, comme elles peuvent aussi développer des stratégies de survie afin de résister aux variations liées à leur environnement.

Elles se développent dans :

- **Les milieux naturels** : l'eau douce principalement, tel que : les lacs, les rivières, les étangs et les boues. On peut aussi la trouver en eau de mer près des estuaires ainsi qu'au niveau des sols humides.

-**Les milieux artificiels** : la prolifération est plus importante dans les structures artificielles telles que les systèmes de climatisation, les installations sanitaires ainsi que tout autre dispositif où il est susceptible de trouver de l'eau stagnante et c'est principalement ces milieux-là qui provoquent la contamination humaine due aux aérosols (90% des cas humains de légionellose sont dus au sérotype 1) (JAMAILOU, 2012).

Certains facteurs environnementaux peuvent affecter leur croissance et leur prolifération telle que la température qui doit se situer entre 25 °C et 42 °C (KARZ, 1987), l'acidité qui doit être entre 5.5 et 8.5 et un apport suffisant en nutriment (oligo-éléments et matière organique).

I.6.4. Pouvoir pathogène

La *Legionella* est à l'origine de 3 entités cliniques distinctes :

- La légionellose / maladie des légionnaires : elle se caractérise par une pneumonie aiguë ayant un temps d'incubation de 2 à 10 jours post-exposition avec des symptômes similaires à une grippe avec une hyperthermie, des céphalées, une asthénie ainsi que des myalgies sans oublier une toux sèche.

A ces symptômes peuvent s'ajouter des troubles digestifs ou neurologiques. Dans des cas plus graves, une détresse respiratoire, une insuffisance rénale aiguë ou une défaillance de plusieurs organes peuvent survenir.

- La fièvre de Pontiac : elle représente la forme bénigne de la maladie des légionnaires, elle se manifeste par une toux, de la fièvre ainsi que des problèmes gastro-intestinaux, le patient ne manifeste cependant pas de pneumonie, elle n'est d'ailleurs jamais mortelle, avec une période d'incubation très réduite de 1 à 2 jours et ne nécessite généralement pas de traitement, la guérison a lieu le plus souvent en moins de 5 jours (TOSSA et al ,2006).
- Les formes extra-pulmonaires : il peut arriver que les bactéries se localisent dans d'autres organes que les poumons, plus fréquemment rencontrée chez les immunodéprimés. Cette forme peut présenter une pneumonie ou non selon les cas.

Elle provoque des atteintes neurologiques (hallucinations, coma, convulsions, paralysie des nerfs crâniens, myélite aiguë...), cardiaques, digestives, rénales, musculaires, cutanées, articulaires et d'autres encore (Tableau 2).

Tableau 2. Caractéristiques des maladies provoquées par *Legionella* (JARRAUD et al, 2006).

	Maladie des légionnaires	Fièvre de Pontiac	Localisations extrapulmonaires
mortalité	20%	0%	Atteintes hématologiques
période d'incubation	2-10 jours	1-2 jours	Atteintes neurologiques
symptômes	fièvre, toux, myalgie, céphalée, douleur thoracique, diarrhée, confusion	syndrome grippal : fièvre, toux, myalgie	Atteintes cardiaques myocardite, péricardite, endocardite
poumon	pneumonie, pleurésie, abcès pulmonaire	pas de pneumopathie, pas d'abcès pulmonaire	
rein	désordres rénaux : protéinurie, hématurie, insuffisance rénale	pas de manifestations	Atteintes musculaires, rhabdomyolyse
foie	peu d'anomalies de la fonction hépatique	pas de manifestations	
tractus gastrointestinal	diarrhée aqueuse, douleur abdominale, nausées, vomissements	pas de manifestations	localisations digestives rétinite, sinusite
système nerveux central	somnolence, délire, désorientation, confusion	pas de manifestations	

I.6.5. Diagnostique

Comme il n'est pas évident d'apporter un diagnostic fiable suite à l'observation des symptômes à cause de leurs similarités avec les symptômes de diverses maladies causées par d'autres virus ou bactéries, il est important de se tourner vers d'autres méthodes afin d'apporter un verdict final pour ensuite traiter de façon adéquate la maladie. Parmi les méthodes utilisées on peut citer :

- **La recherche d'antigènes urinaires** : cette technique ne permet d'identifier que *L.pneumophila* séro groupe 1, elle représente la méthode la plus rapide, le diagnostic peut être émis dès les premières 24 h suivant l'apparition des premiers symptômes. Les résultats sont obtenus 4 heures après par la méthode Elisa et en 15 min par l'immuno-chromatographie sur membranes, quand ce test n'est pas concluant alors que la maladie est suspectée, une seconde méthode est utilisée soit le test PCR ou la réalisation d'une culture.
- **La culture de prélèvements respiratoires** : décrite comme méthode de référence, elle vient pour confirmer les résultats obtenus lors du test précédent, elle ne se limite pas qu'au séro groupe 1 et est donc plus fiable elle est effectuée à partir de lavage broncho-alvéolaire,

expectoration, aspiration trachéale, aspiration bronchique, biopsie pulmonaire, liquide pleural et sang. La culture se fait sur milieu sélectif de *L.pneumophila*, l'inconvénient est que la culture de cette bactérie est lente, les premiers résultats n'apparaissent qu'au bout de 3 jours et peuvent aller jusqu'à 10 jours.

- **Le test PCR** : le test cible les gènes codant pour les ARN ribosomiaux 5S et 16S, il est relativement rapide.
- **La sérologie** : elle nécessite un délai relativement lent, ainsi qu'un second test. Le premier juste après l'apparition des symptômes, le second un mois après.

I.6.6. Traitement de la légionellose

Le dépistage précoce de la maladie est primordial afin d'éviter toute complication et de diminuer les risques de morbidité. Le type de traitement à prescrire dépend de la sévérité du cas ainsi que de l'état de santé du patient. *L.pneumophila* est traitée grâce aux antibiotiques tels que les macrolides (l'érythromycine, la clarithromycine et l'azithromycine) pour les cas les moins graves, les fluoroquinolones et la rifampicine (couplé à l'un des deux autres types d'antibiotiques) pour les cas sévères. Le traitement dure entre 14 à 21 jours en temps normal, mais peut être allongé de 10 jours supplémentaires pour les immunodéprimés.

I.6.7. Lutte contre les légionelles

De nos jours, les méthodes de décontamination sont diverses et variées mais font face à certaines contraintes réglementaires, car celle-ci ne doit pas se faire au détriment de la qualité de l'eau, en d'autres termes la méthode choisie dépendra grandement de la source de contamination et du type d'installation contaminée. Il existe des critères à prendre en considération avant le choix d'un décontaminant : la qualité physico-chimique de l'eau ainsi que son acidité et sa minéralisation, la nature même des matériaux, la conception du réseau, la présence de tartre, de corrosion et l'existence de bras morts (JARRAUD, 2006).

I.6.7.1. La désinfection physique

- **Le choc thermique** : il consiste à exposer l'ensemble du réseau à une forte température grâce à un chauffage de l'eau (entre 60° C et 80° C), les légionelles ne peuvent résister à de telles valeurs, et le traitement est renouvelable en cas de manque d'efficacité, cependant les hautes températures altèrent la canalisation en accélérant les processus de corrosion.

- **Les ultraviolets** : la longueur d'onde de 254 nm a un effet bactéricide et étant donné que les UV ont une longueur d'onde variant de 100 à 400 nm, cette méthode agit alors directement sur l'ADN, empêchant la réplication bactérienne (FRANZI et al ,2002).
Il faut faire circuler l'eau contaminée dans un canal contenant des lampes à vapeur de mercure submergé. Malgré, l'accessibilité de cette méthode et le fait qu'elle soit peu onéreuse, elle présente cependant un inconvénient important, la photo-corrosion, le débit de l'eau ne doit pas être très important et un contrôle régulier de l'intensité lumineuse s'impose.
- **La filtration** : elle vise à éliminer les bactéries en installant des filtres d'une porosité inférieure à 0.45µm au bout de chaque point d'utilisation (robinet, douches etc.). Ces filtres vont retenir les particules dont le diamètre est supérieur à la porosité, c'est une technique très utilisée dans les hôpitaux. Cette méthode n'apporte aucune altération à l'aspect qualitatif de l'eau mais nécessite une surveillance constante pour éviter les problèmes liés au colmatage des filtres, sans oublier que son effet est localisé seulement au niveau des sorties d'eau.

I.6.7.2. La désinfection chimique

I.6.7.2.1. Agents oxydants

C'est la méthode la plus répandue et elle permet d'oxyder la structure des microorganismes, elle présente cependant une toxicité, ce qui pousse à trouver d'autres alternatives plus douces.

Chlore :

Deux méthodes sont utilisées :

- **Le choc chloré** : c'est une hyperchloration du réservoir à raison de 15 mg/L durant 24h.
- **L'hyperchloration en continue** : à raison de 2 à 6 mg/l

Les inconvénients de cette méthode sont tout de même importants :

- ✓ Provoque une corrosion et une dégradation de la tuyauterie.
- ✓ La toxicité du procédé sur l'homme et l'environnement.
- ✓ Résultat temporaire.

Dioxyde de chlore :

Possédant l'activité bactéricide la plus importante, cette molécule résulte de l'action de l'acide chlorhydrique sur du chlorite de sodium. Doté d'une action rapide, il est utilisé en traitement continu grâce à son caractère non nocif à raison de 1 mg/l. Il est considéré comme étant plus

efficace comparé au précédent traitement (THOMAS et *al*, 2004), ce procédé est moins corrosif mais plus onéreux.

Ozone :

Cette méthode détruit systématiquement tous les microorganismes présents dans l'eau par oxydation, elle agit sur les lipides de la membrane cytoplasmique (BARTOLI et DUSSEAU, 1995), cependant, cette molécule est très instable. Elle est utilisée dans les circuits de refroidissement, les piscines et les réseaux d'eau chaude sanitaire, ce procédé reste cependant assez onéreux et il est donc peu sollicité.

Peroxyde d'hydrogène

C'est un désinfectant puissant et non toxique quand il est stabilisé à l'argent, c'est un virucide, bactéricide, fongicide, sporicide et algicide. Il induit la destruction du biofilm favorisant le développement des bactéries et il n'a aucun effet sur les matériaux.

Acide peracétique

Il agit sur les membranes externes des cellules des microorganismes suite à un échange d'électrons. C'est un oxydant très puissant et très corrosif. Celui-ci peut être couplé à du peroxyde d'hydrogène et à l'acide acétique pour optimiser son efficacité (DITOMMASO et *al*. 2005).

I.6.7.2.2. Agent non oxydant : ionisation cuivre-argent

Cette ionisation est due à une électrolyse, il en résulte alors des ions chargés positivement de cuivre et d'argent, les électrodes sont placées à proximité l'une de l'autre et le flux d'eau à décontaminer les traverses provoquant un échange ionique.

Les ions se lient avec les membranes cellulaires et les enveloppes nucléaires, (chargées négativement, modifiant leurs perméabilités, ce qui provoque leur destruction. Cette technique, peu onéreuse et facile à mettre en place, a prouvé son efficacité. Il faut, cependant, qu'il y ait un contrôle constant des électrodes et de la concentration ionique sans oublier que cette méthode est temporaire car les ions ne traversent pas le biofilm, les microorganismes protégés par ce biofilm ne sont donc pas éliminés (LIU et *al*, 1994).

Matériel et méthodes

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé durant cette étude est :

- Carapaces de crevettes de l'espèce *Parapenæus longirostris*.
- Bactérie pathogène : *Legionella pneumophila*.
- Chitosane commercial (BNP biophytonutrial).
- BSA (Albumine de sérum bovin).

II.1.2. Matériel non-biologique

Les différents appareils et réactifs qui ont été utilisés durant cette étude sont cités dans le tableau ci-dessous :

Tableau 3. Appareils et réactifs utilisés.

Appareils	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> - Agitateur magnétique chauffant (IKA® WERKA RCT basic). - Agitateur magnétique chauffant (Fisherbrand™ LAB-MIX 35). - Agitateur magnétique à 6 postes. (LABINCO BV). - Agitateur BIOBLOCK SCIENTIFIC. - Appareil BRUKER RMN. - Balance de précision (SHIMADZU AUW220D UNI BLOC). - Balance de précision (KERN ABS 220-4N). - Bêchers (25 ml, 50 ml, 100 ml, 2 L). - Boîtes de Pétri. - Ballons (250ml, 2L.) - Bec bunsen. - Bacs en inox. - Barreaux magnétiques. - Chauffe ballons (Benstead Electro thermal). - Creusets en porcelaine. - Congélateur. - Ciseaux. - Cuves de spectrophotométrie en quartz. - Cuves de spectrophotométrie à 	<ul style="list-style-type: none"> - Acide chloridrique (HCL) - Acide Acétique. - Acide sulfurique. - Acétone. - BHIB (Bouillon cœur-cerveille). - BCYE (Legionella GrowthSupplement). - Cristaux de Phénol. - Ethanol. - Ether diéthylique. - Eau distillée. - Eau physiologique. - Eau du robinet. - Glycérol. - Gel de silice. - GVPC (Legionella SelectiveSupplement). - Hypochlorite de sodium. - Kit d'agglutination Legionella Latex Test. - <i>Legionella</i> CYE agar base. - NaOH (Hydroxyde de Sodium). - Réactif de Bradford. - Saccharose. - TiO₂ (Titanium dioxide).

<p>usage unique.</p> <ul style="list-style-type: none">- Cartouches en cellulose.- Densimètre.- Dispositif de Soxhlet (huberminichiller).- Dessiccateur.- Disques pour antibiogrammes.- Etuve (MEMMERT UM 600).- Evapoconcentrateur (IGOUD).- Eprouvettes graduées (10ml, 50ml, 100ml).- Erlenmeyer 2L.- Evaporateur rotatif (Ika HB10).- Ecouvillons.- Entonnoirs en plastique et en verre.- Four à moufle (wise therm).- Fioles jaugés (10ml, 50 ml, 100ml, 500ml, 1L).- Filtres seringues (0.45μm)- Flacons en verre 1L. (PYREX).- Flacons stériles à usage unique en PET 1L.- Incubateur (NEW BRUNSWICK SCIENTIFIC G24).- Mixeur.- Micropipettes et cônes stériles. (2-20μl) (20-100 μl) (100-1000μl).- Mortier.- Membranes de filtration (de 0.45μm.)- Portoirs.- Passoire.- Pipettes Pasteur.- Papier absorbant.- Papier wattman.- P^H mètre (inoLab).- Pincés métalliques.- Pissettes.- Rampe de filtration à 6 postes.- Spatules.- Spectrophotomètre UV-Visible (Shimadzu UV1800).- Tamis de 200μm.- Tubes à essais.- Thermomètres.- Seringues.- Viscosimètre numérique de la série NDJ-5S.	
--	--

II.2. Collecte et traitement de la matière première

II.2.1. Récolte de la matière première

La récolte de la matière première (carapaces fraîches de crevettes) s'est faite : la fin mars 2021, au niveau de la pêcherie d'Alger. L'identification de l'espèce a été effectuée au niveau du laboratoire d'aquaculture au niveau de l'ENSSMAL avec la contribution de madame FELLAH et sur la base des fiches FAO (FISCHER, 1987).

II.2.2. Prétraitement de l'échantillon

Avant de pouvoir exploiter notre échantillon d'une quelconque façon il a été nécessaire de procéder à un prétraitement se répartissant en plusieurs étapes (Figures 6, 7 et 8) :

- a. **Le nettoyage** : visant à éliminer toute trace de chair lors de la décortication des carapaces, afin d'optimiser l'étape de la déprotéinisation. Il a été ensuite nécessaire de procéder à un rinçage, dans le but de retirer tous les résidus de sable, microorganismes et autres substances susceptibles de s'être accrochées à la surface, avec de l'eau courante dans un premier temps puis un dernier rinçage à l'eau distillée.
- b. **Le séchage** : il a été fait, à l'air libre, à température ambiante et à l'abri du soleil, sur papier cuisson durant 48h dans le but d'éliminer le maximum d'eau qui compose la carapace.
- c. **Le broyage et le tamisage** : la matière sèche a été broyée puis tamisée à l'aide d'un tamis de 200 μ m afin que la poudre soit la plus fine possible.



Figure 7. Séchage de la matière première



Figure 6. Broyage de la matière première



Figure 8. Tamisage de la poudre

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

II.3.1. Détermination de la teneur en eau

La teneur en eau est définie par le rapport du poids de l'eau dans l'échantillon en fonction du poids de la matière sèche après l'élimination de toute la quantité d'eau présente initialement, Suite à un séchage dans une étuve à 105°C pendant 24h (jusqu'à poids constant). (AOAC, 1980).

Mode opératoire :

- Peser le creuset vide ;
- Peser 2g d'échantillon dans le creuset et noter le poids total ;
- Mettre le creuset dans l'étuve à 105°C ;
- Après que les 24h se soient écoulées, retirer le creuset et le laisser refroidir dans un dessiccateur ;
- Effectuer la pesé finale.

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

$$H\% = \frac{M1 - M2}{M1 - M0} \times 100 \quad (\text{II.3.1})$$

Avec :

M0 : Le poids du creuset vide

M1 : Poids du creuset avec l'échantillon avant étuvage à 105°C

M2 : Poids du creuset avec l'échantillon après étuvage à 105°C

II.3.2. Détermination de la teneur totale en matière minérale

La teneur en matière minérale a été déterminée par incinération au four à moufle, La poudre de carapaces de crevettes a été placée à 600°C pendant 4h (AOAC, 1999). Des cendres sont formées après épuisement de la matière organique (Figure 9).

Mode opératoire :

- Peser un creuset vide dans une balance à précision ;
- Peser 2g de poudre de crevettes dans le creuset vide ;
- Placer le creuset dans un four à moufle à 600°C, pendant 4h ;
- Placer le creuset dans un dessiccateur pour refroidir sans que les cendres ne se réhumidifient ;
- Repeser le creuset avec l'échantillon après refroidissement.

Lecture :

La teneur en minéraux est déterminée selon la formule suivante :

$$C\% = \frac{M_2 - M_0}{M_1 - M_0} \times 100 \quad (\text{II.3.2})$$

Avec :

C (%) : La teneur totale en minéraux exprimée en pourcentage ;

M_0 : La masse du creuset vide en g ;

M_1 : La masse du creuset et de l'échantillon avant incinération en g ;

M_2 : La masse en g du creuset avec les cendres.

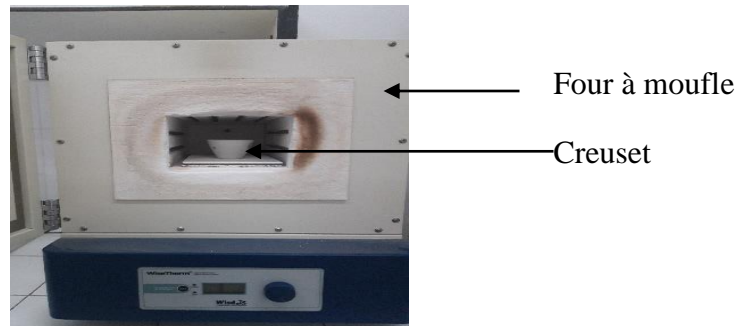


Figure 9. Disposition de l'échantillon dans le four à moufle

II.3.3. Détermination de la teneur en lipides totaux

La détermination de la teneur en lipides totaux est effectuée grâce à l'extracteur de Soxhlet (Figure 10). Pour se faire, une quantité déterminée de poudre de carapaces est placée dans la cartouche de cellulose, cette dernière est disposée au niveau de la chambre d'extraction. Puis une quantité de solvant est versée dans la chambre de stockage (le ballon) qui sera porté à ébullition, celui-ci va s'évaporer et se condenser au niveau du réfrigérant pour se rediriger vers la chambre de stockage, en passant par la chambre d'extraction à travers les parois de la cartouche en cellulose, ce qui va solubiliser les composés lipidiques qui vont être vidangés en même temps que le solvant vers le ballon. Ce cycle va se répéter jusqu'à l'extraction complète de tous les composés lipidiques (EL HOUDA, 2017).

Pour déterminer la teneur il suffira d'effectuer une pesée du ballon (chambre de stockage) avant et après extraction puis de calculer le pourcentage de la masse obtenue en fonction de la masse initiale.

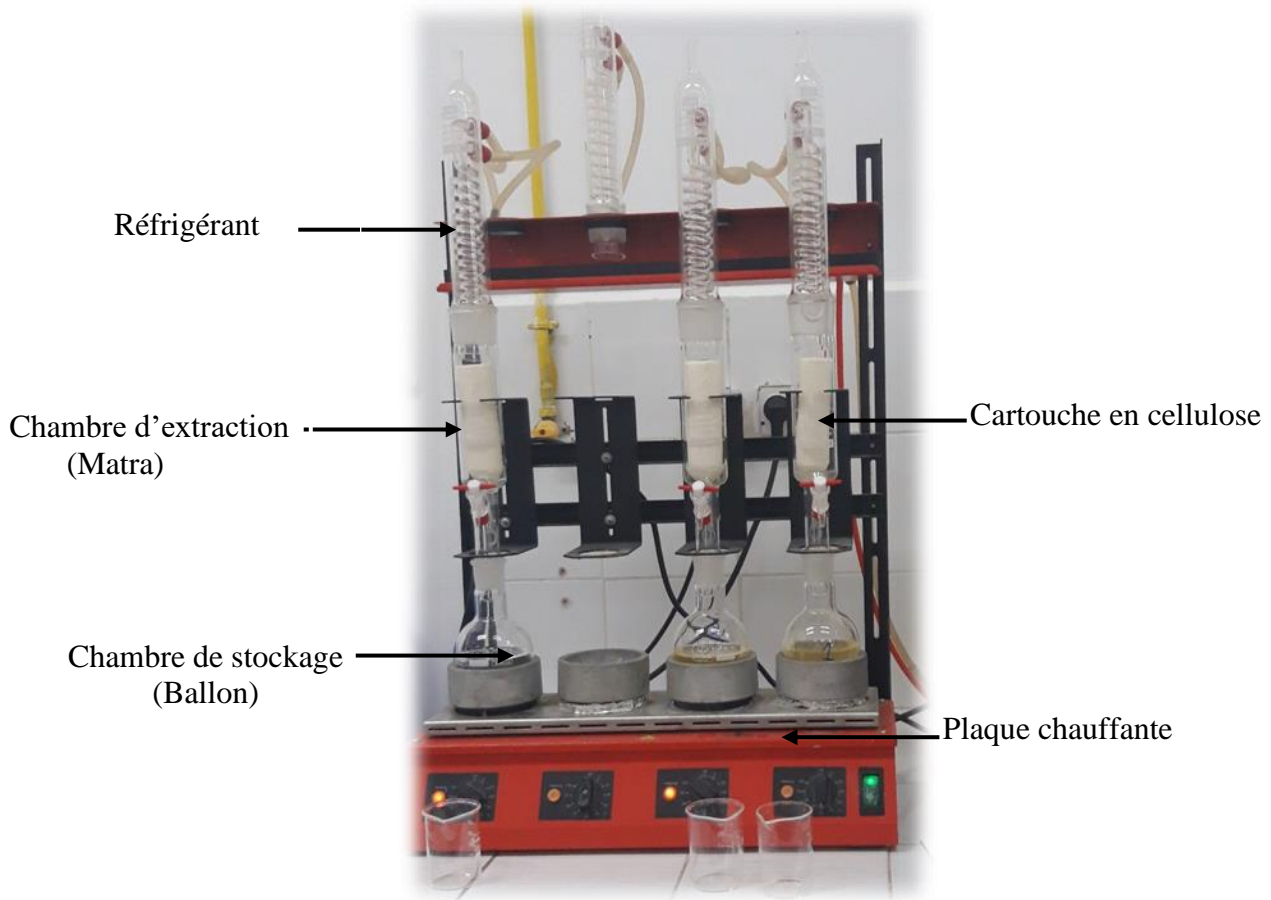


Figure 10. Extracteur de Soxhlet

Mode opératoire

- Mettre en marche le réfrigérant à 2°C ;
- Peser le ballon vide avant extraction ;
- Dans une cartouche de cellulose peser 2g de poudre de carapaces de crevettes ;
- Placer la cartouche dans la chambre d'extraction ;
- Prévoir un blanc qui ne contiendra que le solvant (pour confirmer l'absence de composés lipidique dans celui-ci) ;
- Ajouter 160 ml d'éther éthylique ;
- Préchauffer le ballon à 100°C pour porter le solvant à ébullition, une fois fait abaisser sa température à 60°C pendant 4 heures ;
- Une fois le temps écoulé le ballon est placé dans un rota-vapeur à 60°C afin de concentrer les lipides obtenus en éliminant le solvant ;

- Repeser le ballon.

La teneur en lipide est déterminée à l'aide de l'équation suivante :

$$L\% = \frac{P_1 - P_0}{P_0} \times 100 \quad (\text{II.3.3})$$

L (%) : La teneur en lipides totaux ;

P₀ : Le poids du ballon vide avant extraction

P₁ : Le poids du ballon après extraction

II.3.4. Détermination de la teneur en protéines totales

La teneur en protéines a été déterminée par dosage colorimétrique, selon la méthode de Biuret, les liaisons peptidiques réagissent avec les ions cuivriques (provenant du sulfate de cuivre, un réactif de la réaction) et forment un complexe de coloration bleu-violacée en milieu alcalin.

Mode opératoire :

- Préparer une série de tubes énumérés ;
- Préparer une solution mère de BSA à 1 % ;
- Dissoudre l'échantillon (poudre de carapaces de crevettes) dans un volume déterminé d'eau distillée ;
- Ajouter dans les tubes des volumes graduels de solution de BSA ;
- Compléter avec de l'eau distillée jusqu'à volume final constant et bien mélanger ;
- Ajouter 1 ml de solution de NaOH ;
- Ajouter un volume déterminé du réactif de Biuret ;
- Incuber à température ambiante de 30 à 90min ;
- Prélever une partie de la solution contenue dans les tubes à essais afin de remplir la cuvette photospectrométrique aux trois quarts ;
- Mesurer l'absorbance à la longueur d'onde de 545 nm.

Lecture :

Les valeurs obtenues permettent de tracer la courbe d'étalonnage des absorbances en fonction des concentrations en protéines, $A = f[\text{protéines}]$. Cette dernière permet la détermination de la teneur totale en protéines des carapaces de crevettes étudiées.

II.3.5. Détermination de la teneur en sucres totaux (méthode DUBOIS modifiée)

La teneur en sucres totaux a été déterminée par dosage colorimétrique, les sucres et leurs dérivés méthylés réagissent avec le phénol et l'acide sulfurique concentré pour donner un produit de coloration jaune orangé stable pendant plusieurs heures (DUBOIS et aln1956).

Mode opératoire : (Figure 11)

- Préparer une série de tubes énumérés ;
- Dissoudre l'échantillon de poudre de carapaces de crevettes dans de l'eau distillée.
- Ajouter des volumes graduels de solution de saccharose ;
- Compléter avec de l'eau distillée jusqu'à l'obtention d'un volume final constant ;
- Ajouter une solution de phénol à 80 % ;
- Ajouter de l'acide sulfurique à 95% massique ;
- Laisser les tubes au repos 10 minutes, puis agiter et placer pendant 10 à 20 minutes à une température de 30°C ;
- Prélever une partie de la solution contenue dans les tubes à essais afin de remplir la cuvette photospectrométrique aux trois quarts ;
- Mesurer l'absorbance à la longueur d'onde de 490 nm.

Lecture :

Les valeurs obtenues permettent de tracer la courbe d'étalonnage des absorbances en fonction des concentrations en sucres, $A = f[\text{sucres totaux}]$. Cette dernière permet la détermination de la teneur en sucres totaux.

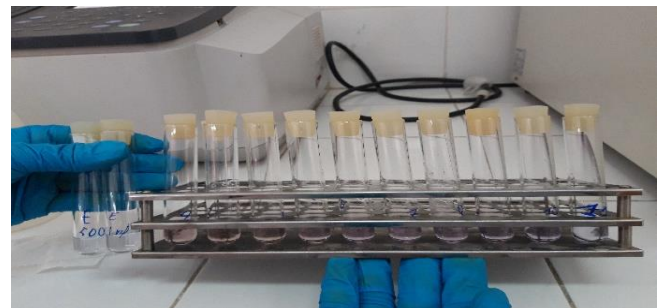
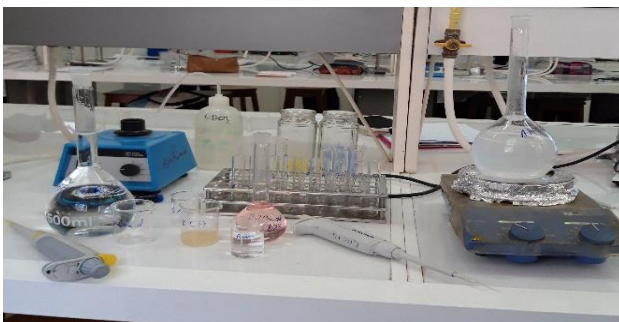


Figure 11. Préparation de la gamme étalon.

II.4. Extraction du chitosane

L'extraction du chitosane a été réalisée sur la base de synthèse des protocoles décrits dans la littérature et les conditions optimums de production déterminées après plusieurs essais, conciliants rendements d'extraction et qualité du chitosane produit (EATON et al., 2008, LIU et al., 2020, TRUONG et al., 2007).

II.4.1. Dépigmentation et délipidation

Cette étape permet l'élimination des lipides et des pigments, elle consiste à laisser macérer la poudre de carapaces de crevettes dans de l'acétone/éthanol pendant 18 à 20h. Après macération, faire plusieurs lavages à l'eau distillée jusqu'à éclaircissement de la couleur de la poudre (Figure 12).



Figure 12. Etape de délipidation et dépigmentation.

II.4.2. Déminéralisation

L'objectif de cette étape est d'éliminer les minéraux présents dans la poudre de carapaces de crevettes. Après dépigmentation la poudre est récupérée, séchée, pesée et ensuite transférée dans un ballon de 2L avec l'ajout graduel de l'acide chloridrique 1N. Sur une plaque chauffante magnétique, le ballon est mis sur agitation moyenne et à une température de 70°C pendant plusieurs minutes. Le contenu du ballon est filtré et la poudre est récupérée. Après plusieurs lavages à l'eau distillée le pH de la poudre est neutralisé.

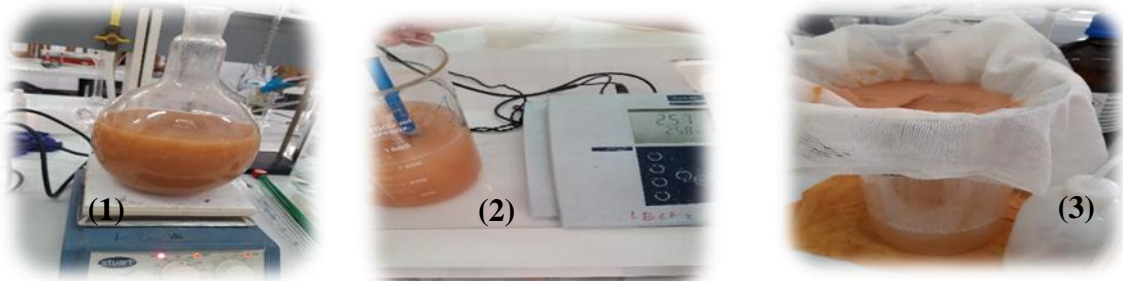


Figure 13. (1) Déminéralisation sur plaque chauffante, (2) Mesure du pH, (3) Lavage de la poudre à l'eau distillée.

II.4.3. Déprotéinisation et désacétylation :

Elle est effectuée à l'aide d'une solution d'hydroxyde de sodium à 12.5N. Après séchage de la poudre obtenue suite à la déminéralisation, une pesée est effectuée afin de déterminer la quantité de poudre obtenue dans le but de connaître la quantité de NaOH nécessaire au processus.

Dans un ballon de 2 litres mettre la poudre obtenue ainsi que la solution caustique sous agitation à haute température pendant quelques heures. Puis effectuer un lavage à l'eau distillée afin de neutraliser le pH.

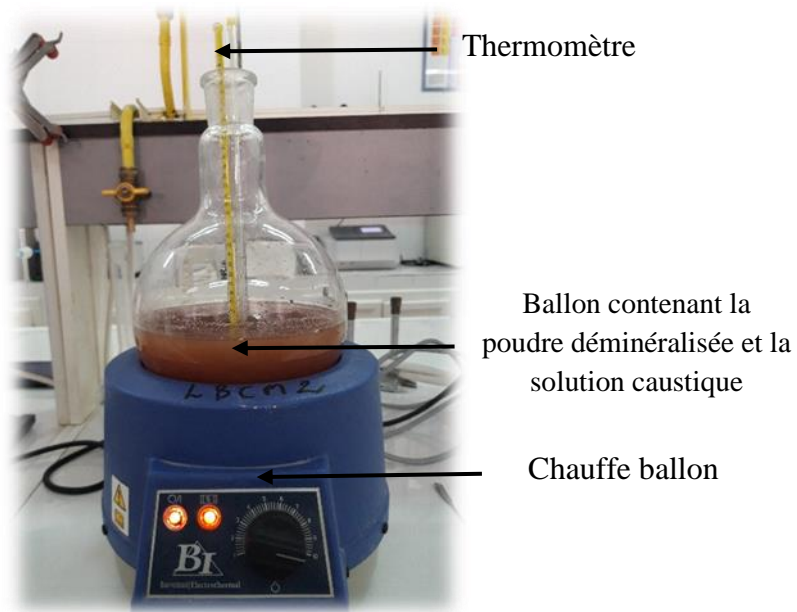


Figure 14. Dispositif de déprotéinisation.

II.5. Caractérisation du Chitosane

II.5.1. Rendement massique du chitosane

Le rendement massique est calculé à partir du poids du chitosane obtenu après extraction en fonction du poids de la poudre de carapace de base (LE ROUX, 2012), selon la formule ci-dessous :

$$Y_m (\%) = \frac{M_2}{M_1} \times 100 \quad (\text{II.5.1})$$

Avec :

M1 : le poids de la poudre initiale.

M2 : le poids du chitosane obtenue.

II.5.2. Test de solubilité

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

II.5.3. Test de viscosité

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

Les solutions sont passées à l'analyse dans un viscosimètre numériques de la série NDJ. Le principe est de placer le liquide à étudier entre deux cylindres coaxiaux (l'un mobile, l'autre fixe). Lorsque le cylindre mobile est entraîné en rotation, il se crée un gradient de vitesses à l'intérieur du fluide, proportionnel à la vitesse de rotation. Le fluide exerce alors une contrainte sur le cylindre mobile en lui imposant une certaine résistance, directement mesurée par un capteur. (MEYER, 2018).

II.5.4. 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)

$$DP = (POM0) - (PrMr) / (POM0) \times 100 \quad (II.5.4)$$

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

P0 et Pr : les pourcentages de protéines respectivement dans le produit initial et résiduel.

La teneur en protéines est déterminée par la méthode de Biuret décrite précédemment.

II.5.5. Calcul du degré de déminéralisation

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

$$DM = (AOM0) - (ArMr) / (AOM0) \times 100 \quad (II.5.5)$$

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

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

II.5.6. Mesure du degré de désacétylation par résonance magnétique nucléaire RMN H¹

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

L'échantillon à analyser est préparé par dissolution de 5 mg de chitosane dans 0.5 ml d'une solution à 2% en masse de DCI dans D₂O. Les spectres RMN sont enregistrés sur un spectromètre BRUKER Avance 250 MHz à 70°C (AUDAT, 2013).

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

$$DDA = [1 - (1/3 \times I_{HAc}) / (1/6 \times I(H2-H6))] * 100 \quad (II.5.6)$$

Avec :

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

II.6. Etude du pouvoir antibactérien (anti *Legionella pneumophila*) du chitosane

II.6.1. Revivification de la souche

II.6.1.1. Préparation du milieu de culture

Avant d'entamer la revivification de la souche, il est primordial de préparer le milieu de culture spécifique, cette tâche revient, cependant, aux spécialistes de l'institut Pasteur. Il suffira en suite de faire fondre le milieu de base pour légionelles et d'y ajouter le supplément de croissance (BCYE : riche en cystéine qui est indispensable à la croissance des légionelles) et le supplément sélectif (GVPC : antibiotiques qui serviront à inhiber la croissance des autres germes) après avoir mélangé les composants ; il suffira ensuite de couler les boîtes qui seront par la suiteensemencées et utilisées pour les expérimentations (Figures 15 et 16).



Figure 15. Séchage du milieu de culture.

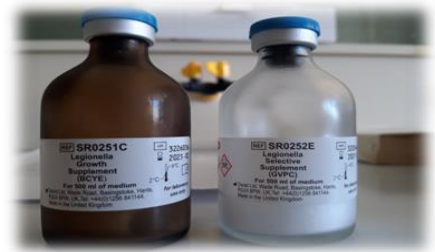


Figure 16. Le supplément de croissance et le supplément sélectif.

Mode opératoire :

- Mettre 4 flacons de 250ml contenant le milieu BCYE à fondre dans un bain marie ;
- Stériliser la paillasse à l'aide d'eau de javel ;
- Allumer les becs bunsen ;
- Préparer un flacon stérile en plastique de 1L ;
- Préparer un nombre suffisant de boîtes de Petri ;
- Prendre 2 flacons de « legionella growth suplement » ,ajouter dans chacun d'entre eux 25 ml d'eau distillée ;
- Prendre 2 flacons de « legionella selective suplement » ,ajouter dans chacun d'entre eux 10ml d'eau distillée ;
- Une fois le milieu à l'état liquide ,le retirer et le laisser refroidir légèrement sous l'eau courante ;
- Verser 2 flacons contenant le milieu BCYE dans le flacon sterile , y ajouter les 2 flacons du growth suplement ainsi que les deux du selective suplement ;
- Refermer le flacon et bien agiter ;
- Compléter à l'aide des deux flacons qui restent jusqu'à atteindre 1L ;
- Couler les boîtes ;
- Flamber chaque boîte avant de la refermer pour éliminer les bulles d'air ;
- Laisser le milieu se solidifier.

II.6.1.2. La revivification (Figure 17)

- Décongeler un tube de conservation contenant une suspension préalablement ensemencée avec *Legionella pneumophila* ATCC 33152 ;
- Vortexer le tube pour uniformiser la suspension ;
- A l'aide d'une pipete Pasteur stérilisée, prélever une goutte de la suspension ;
- Ensemencer en surface sur le milieu BCYE en utilisant la méthode de l'épuisement de la goutte ;
- Incuber à 37 °C, son temps de croissance peut aller jusqu'à 10 jours.

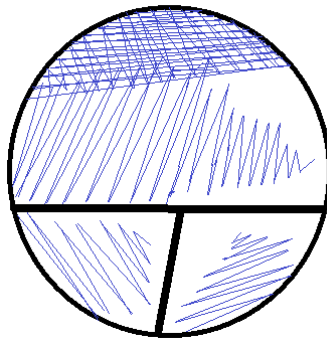


Figure 17. Schéma représentatif de l'ensemencement par épuisement.

II.6.2. Méthode de diffusion sur disques

Principe :

Les méthodes de diffusion sur disques, ont toujours joui d'une grande popularité dans les laboratoires de microbiologie clinique, en raison de la relative simplicité de la technique et la capacité de tester facilement plusieurs agents antimicrobiens sur chaque isolat bactérien. La méthode consiste à placer des disques de papier imprégnés d'antimicrobiens sur la surface de la gélose qui a déjà été ensemencée avec les bactéries à tester. L'agent antimicrobien diffuse ensuite, dans la gélose où il peut inhiber la croissance des bactéries dans une zone entourant le disque (JAMES- BIEMER,1973).

La souche testée est une souche ATCC 33152 *Legionella pneumophila*.

Mode opératoire : (Figure 18)

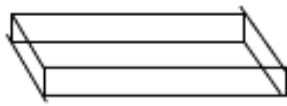
- Préparer une suspension bactérienne d'une densité de 0.5 McFarland dans l'eau physiologique à partir d'une culture jeune (48-72h) ;
- Etaler à l'aide d'un écouvillon la suspension sur milieu BCYE ;
- Placer les disques sur la gélose après les avoir imbibés avec 80 µl de solution de chitosane ;
- Incuber pendant (2-10jrs) à 37 °C.

Lecture :

Pour tous les tests d'antagonisme, les diamètres des zones d'inhibition apparaissant autour des disques seront mesurés, le résultat est positif si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 2 mm (TABAK et *al*, 2007).

La technique :

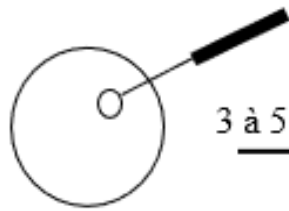
1- Couler le milieu BCYE :



V= 45ml

Faire sécher la surface de la gélose à 37 °C pendant 15 min

2- Préparation de la suspension bactérienne :



3 à 5 colonies isolées

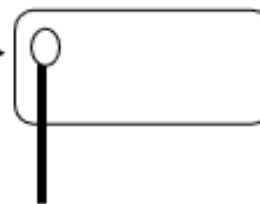


10 ml d'eau physiologique stérile

D= 0,5 McFarland

3- Ensemencement par écouvillonnage :

Essorer l'écouvillon contre la paroi du tube



- Faire des stries très serrées
- 3 passages en faisant pivoter de 90°

4- Dépôt des disques :



(1)



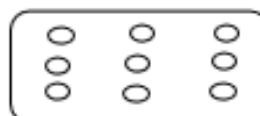
(2)



Chitosane en solution

- (2)
- Déposer les disques sur la gélose avec une pince métallique stérile

- (1)
- Inonder les disques avec le chitosane en solution
 - Laisser absorber 30 secondes



5- Incuber (2-10jrs) à 37°C

Figure 18. Schéma récapitulatif de l'activité antibactérienne (méthode des disques).

II.7. Décontamination d'une eau contaminée par *Legionella pneumophila*

II.7.1. Décontamination par les UV solaires (SODIS)

La désinfection solaire de l'eau (SODIS) est un traitement à simple utilisation, respectueux de l'environnement et peu coûteux, dans lequel l'eau potable contaminée est placée dans des bouteilles en plastique transparent de polyéthylène téréphtalate (PET) et exposées au plein soleil pendant au moins 6 h (ou 2 jours consécutifs s'il y a plus de 50% de couverture nuageuse) pendant les heures de clarté, lorsque l'intensité maximale de rayonnement se produit (IGOUD et *al*, 2015). La lumière du soleil désinfecte l'eau contaminée par l'action du rayonnement dans le spectre de la lumière ultraviolette (UV) et par les températures élevées atteintes dans l'eau (EAWAG, 2008).

Mode opératoire :

- Contaminer l'eau distillée à une densité de 0.1 McFarland avec des colonies de la souche ATCC33152 ;
- Verser l'eau contaminée dans des flacons stériles de 1L en PET ;
- Fermer hermétiquement les flacons ;
- Placer dans un endroit où il y a un maximum d'intensité lumineuse (au niveau de l'institut Pasteur) et mettre sous agitation magnétique continue pendant 6h. (Les expérimentations se sont déroulées entre 9h30 et 15h30).

Cette expérimentation a été effectuée sur 3 flacons d'eau contaminée par *L. pneumophila* sous les mêmes paramètres et conditions (Température, Agitation, Intensité et durée d'exposition aux UV solaires et densité en bactéries).

II.7.2. Décontamination par photocatalyse en utilisant (TiO₂)

La photocatalyse hétérogène est l'une des technologies d'oxydation avancées TOA qui a pour but la minéralisation totale de polluants en CO₂, H₂O et composés inorganiques.

Elle consiste à irradier un semi-conducteur, généralement du dioxyde de titane (TiO₂), à l'aide d'un rayonnement ultraviolet (UV) produit naturellement via la lumière solaire ou artificiellement à l'aide d'une lampe (UV). (Dans la présente étude l'irradiation est faite à l'aide d'UV solaires).

La concentration du TiO₂ est optimale à 1,5g/l (MOUSSAOUI et BOUMRAR, 2011, IGOUD et *al*, 2015).

Mode opératoire :

- Contaminer l'eau distillée à une densité de 0.1 Mc Farland avec des colonies de la souche ATCC33152 ;
- Verser l'eau contaminée dans des flacons stériles de 1L en PET ;
- Ajouter 1.5g de TiO_2 dans chaque flacon ;
- Fermer hermétiquement les flacons ;
- Placer dans un endroit où il y a un maximum d'intensité lumineuse (au niveau de l'IPA). En mettant sous agitation magnétique continue pendant 6h. Les expérimentations se sont déroulées entre 9h30 et 15h30.

Cette expérimentation a été effectuée sur 3 flacons d'eau contaminée par *L. pneumophila* sous les mêmes paramètres et conditions (Température, Agitation, Concentration en TiO_2 , Intensité et durée d'exposition au UV solaires et densité en bactéries).



(1). Flacon d'eau contaminée + TiO_2 (2).Flacon d'eau contaminée.

(3). Agitateur magnétique à 6 postes.

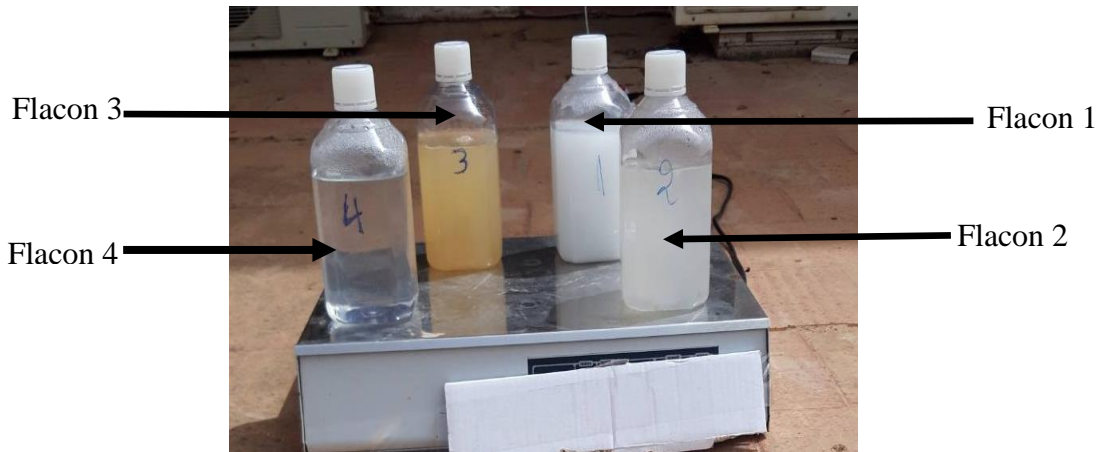
Figure 19. Dispositif de décontamination par photolyse et par photocatalyse.

II.7.3. Décontamination aux chitosane- UV- solaires

Le pouvoir adsorbant du chitosane a déjà été prouvé face aux métaux lourds ainsi que diverses substances toxiques notamment les polychlorobiphényles (PCB) (JEUNIAUX et THOME ,1990). Les essais effectués visent à déterminer si la matière première (poudre de carapace de crevettes) et le chitosane produit ont un pouvoir adsorbant sur la légionnelle ainsi que son efficacité en comparaison au TiO_2 , les expérimentations ont été effectuées en triplicate.

Mode opératoire : (Figure 20)

- Contaminer 5 litres d'eau du robinet à raison de 0.1McFa avec *L.pneumophila* ;
- Préparer 4 flacons stériles chacun contenant 1L d'eau contaminée ;
- Peser 1.5g de TiO_2 et l'ajouter dans le premier flacon ;
- Peser 1.5g de chitosane et l'ajouter dans le second flacon ;
- Peser 1.5g de poudre de carapaces de crevettes et l'ajouté au troisième flacon ;
- Fermer hermétiquement les 4 flacons ;
- Les placer sous un maximum d'intensité lumineuse avec agitation magnétique continue pendant 6h ;
- Le dernier litre doit être filtré dans le but de déterminer le nombre initial de *Legionella pneumophila* présente dans l'eau contaminée.



Flacon 1 : eau contaminée + TiO_2 , Flacon 2 : eau contaminée + chitosane, Flacon 3 : eau contaminée + poudre de carapaces de crevettes, Flacon 4 : eau contaminée.

Figure 20. Décontamination par photocatalyse, SODIS et chitosane-UV solaires.

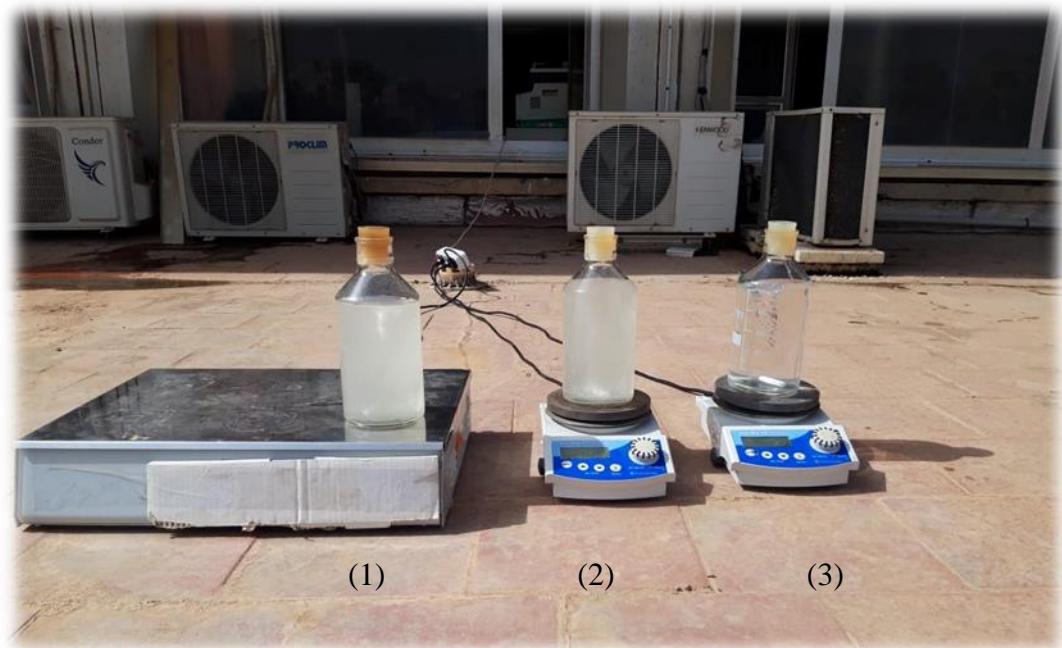
II.7.4. Décontamination par chitosane-UV solaires-chauffage

Afin d'optimiser les méthodes précédentes, nous avons ajouté le paramètre température aux expérimentations précédentes (Figure 21).

Mode opératoire :

- Contaminer l'eau du robinet à une densité de 0.1 McFarland avec des colonies de *L.pneumophila* ATCC33152 ;
- Verser l'eau contaminée dans 3 flacons stériles de 1L en verre ;
- Ajouter 1.5g de chitosane en poudre dans deux flacons ;
- Fermer hermétiquement les flacons ;
- Placer tous les flacons dans un endroit où il y a un maximum d'intensité lumineuse (au niveau de l'IPA) ;
- Mettre 1 flacon contenant le chitosane sous agitation magnétique continue pendant 6h (Les expérimentations se déroulent entre 9h30 et 15h30) ;
- Mettre les 2 autres flacons sous agitation magnétique continue et fixer la température à 70 °C pendant 6h (Les expérimentations se sont déroulées entre 9h30 et 15h30).

L'expérimentation est reproduite 3 fois sur trois jours (le 08/07/201, le 11/07/2021 et le 12/07/201).



- (1) Flacon d'eau contaminée + chitosane sans chauffage.
- (2) Flacon d'eau contaminée + chitosane + chauffage (70°C).
- (3) Flacon d'eau contaminée + chauffage.

Figure 21. Décontamination par chitosane - UV solaires – chauffage.

II.7.5. Décontamination par évapo-concentration

L'évapo-concentrateur doit être chauffé à l'aide des rayons solaires (infrarouges) ou d'une plaque chauffante, suite à cela, la température de l'eau s'élèvera provoquant ainsi son évaporation, elle se condensera par la suite au niveau du toit du dispositif et finira par s'écouler tout au long de celui-ci jusqu'à atteindre la gouttière, qui, en se remplissant l'évacuera à travers l'orifice. Elle est par la suite récupérée à l'aide d'un tuyau dans un flacon stérile.

Cette technique se fait en utilisant un évapoconcentrateur, c'est un alambic en plaque de verre trompé, d'une épaisseur de 3 mm environ se composant d'une vasque de 4 cm de hauteur et emboîté et centrée dans une vasque d'une taille supérieur de façon à laisser une gouttière 1.5cm entre les deux vasques, celles-ci recouvertes d'un couvercle à deux pentes du même matériau, le tout scellé de façon à ce qu'il ne puisse pas y avoir de perte lors du processus d'évaporation. Seules trois petites ouvertures circulaires d'un centimètre de diamètre sont percées deux au niveau du toit permettant le remplissage de la vasque centrale avec l'eau à traiter ainsi que la mesure de la température et la troisième au niveau de la gouttière facilitant ainsi la récupération de l'eau après traitement (Figures 22 et 23).

Ce dispositif a été conçu par Dr IGOUG S. de l'UNEDS et il a été mis à notre disposition pour le traitement d'une eau contaminée par *Legionella pneumophila*.



Figure 23. Evapoconcentrateur posé au-dessus de deux plaques chauffantes

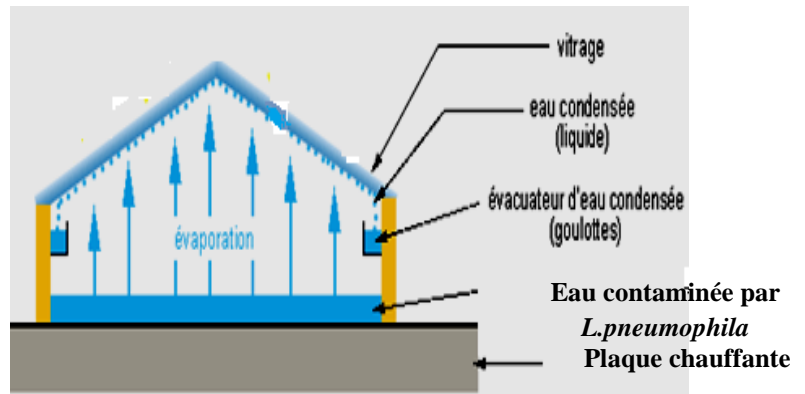


Figure 22. Principe de fonctionnement de l'évapoconcentrateur expérimental (IGOUD, 2015)

II.8. Analyses microbiologiques des eaux traitées

L'objectif de cette analyse est d'évaluer l'efficacité du traitement appliqué par la détermination du degré d'abattement de *L.pneumophila* dans l'eau après traitement par désinfection : solaires (SODIS et photocatalyse), par chitosane et par évapoconcentration.

Matériel et méthodes

Dans la présente étude la méthode utilisée pour estimer la charge en *L.pneumophila* est la filtration sur membrane (AFNOR, 2003). Elle consiste à filtrer un volume d'eau sur des membranes stériles de 0.45 µm de porosité.

Un volume (1L) d'eau contaminée (témoin) est filtré pour déterminer la charge bactérienne pour chaque expérimentation.

Après chaque expérimentation, un même volume d'eau (1L) est filtré pour chaque méthode.

Matériel pour filtration sur membrane : (Figure 24)

L'appareil de filtration comprend les éléments suivants :

- Un entonnoir-réservoir ;
- Un support métallique ;
- Un dispositif d'assemblage ;
- Un matériel de liaison supportant l'ensemble de cet appareil de filtration et le reliant à un dispositif d'obtention du vide.

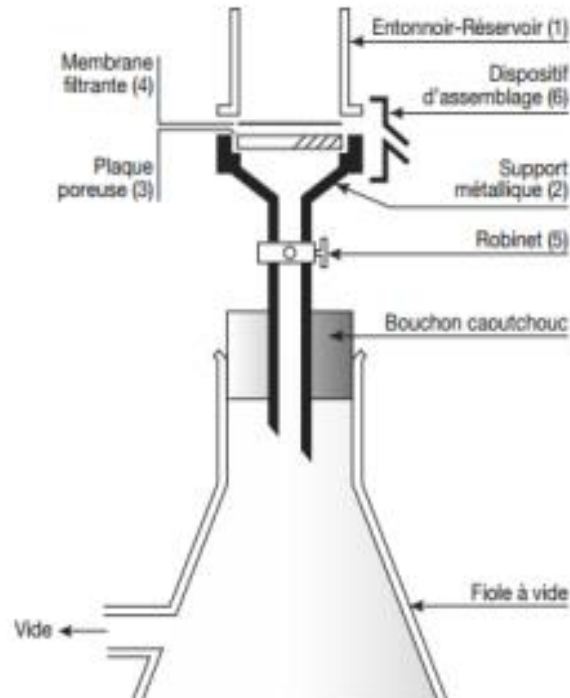


Figure 24. Coupe schématique d'un appareil de filtration sur membrane

Mode opératoire : (Figure 25)

- Raccorder les différents composants d'appareil de filtration ;
- Flamber la face supérieure (plaque poreuse) de la rampe ;
- Bien placer l'entonnoir stérile (flambé ou stérilisé) sur la base de filtres ;
- Verser un volume d'eau distillée a fin de refroidir le dispositif ;
- Placer une membrane stérile d'une porosité de $0,45\mu\text{m}$, côté quadrillé vers le haut, sur le disque poreux en ne saisissant que le bord extérieur de la membrane à l'aide d'une pince à mors plat, stérile ;
- Transvaser dans l'entonnoir un volume de l'échantillon bien mélangé ;
- Ouvrir le robinet et appliquer le vide. Dès que la membrane paraît sèche, refermer le robinet ;
- Retirer l'entonnoir et transférer la membrane à l'aide de la même pince stérile dans un tube puis ensemencher comme indiquer dans la fiche AFNOR.

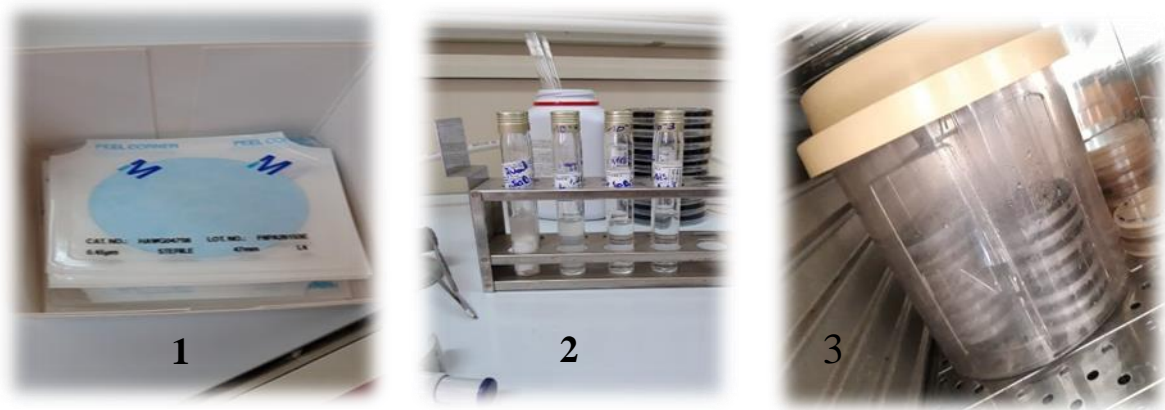


Figure 25. (1) Membrane de filtration. (2). Dilutions (3). Incubation à 37°C.

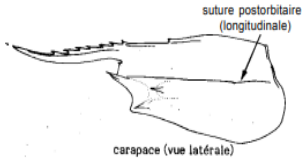
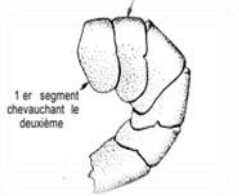
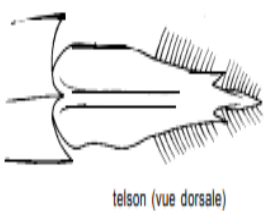



- Incuber les boites pendant (2-10jrs) à 37°C.

Résultats et discussion

III.1. Identification de l'espèce

L'espèce utilisée lors de cette étude est *Parapenæus longirostris* aussi appelée la crevette rose (Figure 26), ce décapode (LATREILLE, 1802) au corps latéralement comprimé possède 5 paires d'appendices abdominaux développés qui sont utilisés pour la nage et une carapace mesurant de 25mm à 41.5mm (BENKABOUCHE,2015). Les principales caractéristiques permettant son identification sont décrites dans le (Tableau 4). Ci-dessous :

Tableau 4. Critères distinctifs pour l'identification de *Parapenæus longirostris*. Fiche FAO (FISCHER,1987)

Critère	Rostre	Segment	Telson
Caractéristiques	<ul style="list-style-type: none"> • Légèrement recourbé vers le haut. • Un bord dorsal armé de 8 dents. • La partie ventrale dépourvue de dents. 	<ul style="list-style-type: none"> • Pleuron du second segment abdominal chevauché par celui du premier segment. 	<ul style="list-style-type: none"> • Se terminant par une pointe flanquée de 2 épines fixes. • Ses marges latérales sans épines mobiles. • Pas d'exopodes à la base des péréiopodes.
Schéma descriptif Fiche FAO (FISCHER, 1987)	 <p>suture postorbitaire (longitudinale) carapace (vue latérale)</p>	 <p>1er segment chevauchant le deuxième</p>	 <p>telson (vue dorsale)</p>
Echantillon			

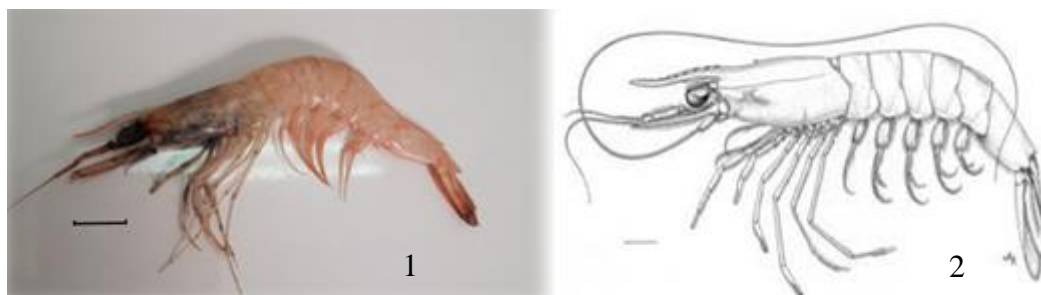


Figure 26. *Parapenaeus longirostris* (Lucas, 1846), (1) échantillon de la pêche d'Alger. (2) Schéma représentatif de *P. longirostris*. Fiche FAO (FISCHER,1987)

III.2. Composition biochimique globale des coproduits de crevettes

La composition biochimique globale des coproduits de crevettes de *P. longirostris* est présentée dans le (Tableau 5) et la (Figure 27) et elle est comparée à celles décrites par les études antérieures :

Tableau 5. Résultats obtenus et comparaison avec les résultats retrouvés dans la littérature.

Taux (%)	Présente étude	(OULHIZ, 2018)	(KEFIL, 2020)	(HADDAB et KORTBI, 2020)
Humidité	11.57	10.09 ± 0.09	10.5	14.61
Matière minérale	39.88	28.09 ± 0.52	32.6	37.49
Lipides	11.04	3.22 ± 02.04	8.7	6.99
Sucres libres	4.7	/	2.14	/
Protéines	8.3	30.63 ±2.01	24.26	28.96

III.2.1. Taux d'humidité (Teneur en eau)

Au regard du tableau 5. Le taux d'humidité, contenu dans les carapaces de notre échantillon qui est de 11.57%, est assez proche de ceux observés lors des études précédentes avec 10% dans les études d'OULHIZ (2018), 10.5% dans le cas de KEFIL (2020) alors que KORTBI et HADDAB (2020) ont enregistré des taux légèrement au-dessus (14.61%).

Néanmoins, contrairement aux autres études dont les carapaces ont été séchées à une température allant de 35 à 37 °C dans une étuve ventilée, pour le présent travail, le séchage a

été fait à l'air libre à température ambiante. Nous constatons donc que le séchage à l'air libre est aussi efficace que celui à l'étuve, cependant la durée de séchage est plus grande.

Par ailleurs, les carapaces de crevettes traitées par KEFIL (2020) et alors que KORTBI et HADDAB (2020) est un mélange de deux espèces (*Aristeus antennatus* et *P. longirostris*), quant à celles de OULHIZ, elles sont issues de la crevette rouge (*Aristeus antennatus*) uniquement.

III.2.2. Teneur en matière minérale :

De même, la teneur en minérale obtenue (39.88 %) est voisine de celles décrites dans la littérature (KORTBI et HADDAB, 2020, KEFIL, 2020). Il est admis que la composition chimique générale de la carapace de crevette fluctue selon l'espèce, selon le sexe, son environnement (La richesse en minéraux), ainsi que son stade de croissance. En effet, les crevettes muent au fur et à mesure qu'elles grandissent car la carapace devient trop petite pour leur corps, et après chaque mue l'animal se retrouve dans l'obligation de reconstitué un nouvel exosquelette, celui-ci est formé à base de minéraux absorbés dans le milieu naturel. La teneur varie alors en fonction de la taille ainsi que du stade de croissance de l'animal.

III.2.3. Teneur en lipides

Les carapaces de crevettes sont relativement pauvres en composés lipidiques (Tableau 5), les valeurs obtenues (8.11%) corroborent avec celles enregistrées par KEFIL (2020) (8.7%). En revanche, elles sont largement supérieures, voire le triple, à celles relevées par OULHIZ (2018) qui est de 3.22%.

III.2.4. Teneur en protéines

La teneur en protéines de l'échantillon est de 8.3%, ce qui représente moins du tiers des taux rapportés par OULHIZ (2018) et KORTBI (2020) qui sont respectivement de 30.63% et 28.96 %.

Toutefois, BOUALEM et HOCINE (2018) ont enregistré des teneurs en protéines totales de l'ordre de 13.12 %.

Cette considérable différence résulte vraisemblablement d'une décortication minutieuse et d'un bon nettoyage de la matière première, lors du nettoyage toute la chair collée à la carapace et au telson a été extraite dans le but de faciliter et d'optimiser l'étape de la déprotéinisation.

La différence est aussi due à l'absence de tête dans l'échantillon analysé par BOUALEM et HOCINE (2018), le présent échantillon aussi présentait une prédominance de la partie abdominale de la carapace de crevettes.

RAVONINJATOVO (2012-2014) a mené une étude comparative entre la composition biochimique des têtes de crevettes et la carapace ; il en a conclu que les têtes ont une richesse plus importante en protéines que les carapaces. Lors d'une étude ; menée par RANDRIAMAHATODY (2011), il a été relevé des taux très élevés en protéines dans les têtes de crevettes qui étaient de l'ordre de 57%.

Il est courant que, pour les animaux aquatiques, des fluctuations dans la composition biochimique dans la chair et coproduits soient observées chez un même individu, des écarts peuvent être relevés entre la région près de la tête par rapport à celle de la queue.

III.2.5. Teneur en sucres

D'après le tableau, la teneur en sucres est considérablement faible presque négligeable, un taux de 4.7% contre 2.14% pour KEFIL (2020), Cela est dû au fait que la part de glucides la plus importante est représentée par la chitine, qui forme un complexe chitino-protéique non détectable par la méthode colorimétrique de Dubois.

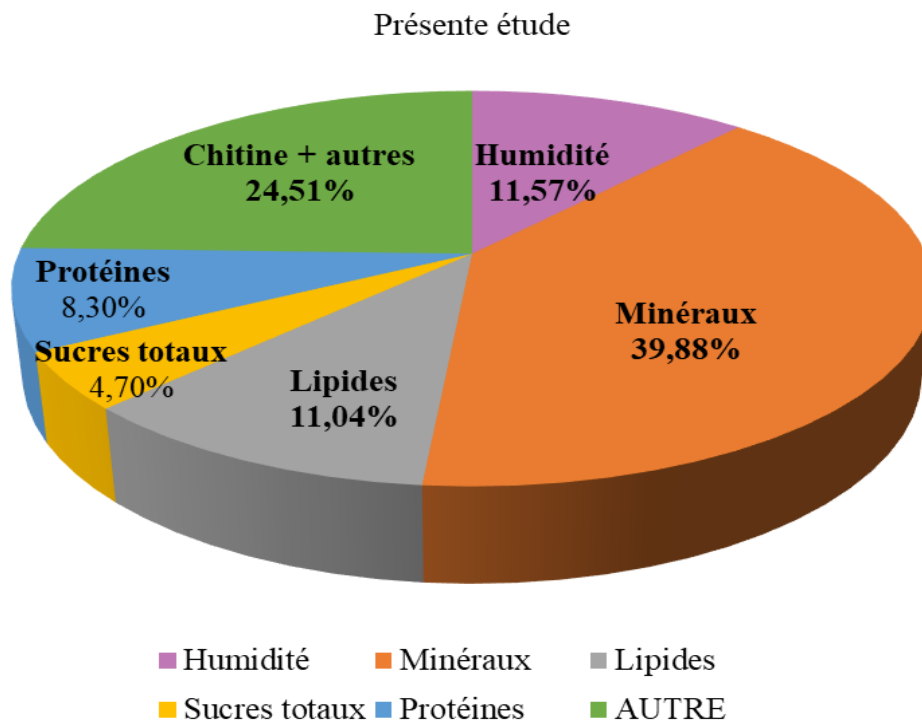


Figure 27. La composition biochimique des coproduits de crevette

III.3. Caractérisation du chitosane produit

Afin de déterminer le rendement d'extraction du chitosane et d'apprécier sa qualité, sa teneur en protéines et de matière minérale résiduelles, sa solubilisation dans un acide dilué et son degré de désacétylation par résonance magnétique (RMN¹H) ont été déterminés.

II.3.1. Rendement massique du chitosane produit

Le chitosane obtenu après déminéralisation, déprotéinisation et désacétylation des coproduits de crevettes (*P. longirostris*), est d'un rendement massique de 11.13 % (Figure 28 et Tableau 6).

La valeur obtenue est proche aux valeurs de rendements obtenus par OULHIZ (2018) (9.02%) et HADDAB et KORTBI (9.6%) En revanche, le taux obtenu est supérieur à ce qui a été reporté par CHENNIT et NAIT YAHIA (2015) (8,1 %) et KEFIL (2020) (6,84 %).

Tableau 6. Rendement massique en chitosane obtenu à partir des coproduits de crevettes rapportés dans la littérature.

	Présente étude	OULHIZ (2018)	CHENNIT et NAIT YAHIA (2015)	HADDAB et KORTBI (2020)	KEFIL (2020)
Rendement d'extraction	11.13 %	9,02 %	8,1 %	9,6 %	6,84 %

Selon ÖZOGUL et al (2018), 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)



Figure 28. Pesée du chitosane produit à partir de 200Gr de carapaces de crevettes.

III.3.2. Solubilité

Le chitosane produit à partir de carapaces de crevettes se solubilise parfaitement dans l'acide acétique 1%, la solution est translucide avec un aspect très visqueux par rapport au chitosane commerciale. (Figure 29)

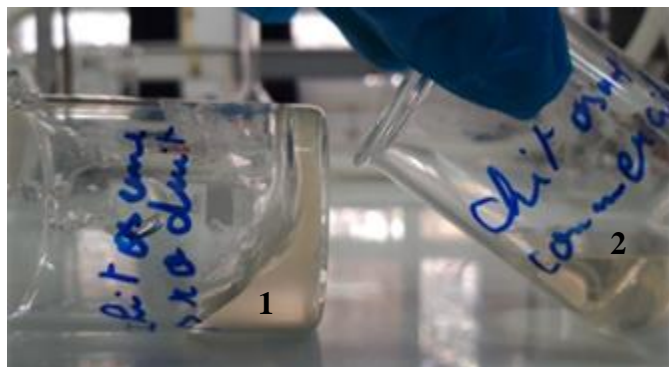


Figure 29. Solubilisation des chitosanes, (1) Extrait. (2) Commercial

Le chitosane est presque insoluble dans l'eau et dans les solutions alcalines aussi bien concentrées que diluées. Cependant il est soluble dans les acides faiblement dilués (comme l'acide acétique, lactique, citrique, ...).

Les groupes aminés du chitosane sont protonés à partir de $\text{pH} = 3$, le chitosane est solubilisé lorsque le polymère est positivement chargé (CATALDO et al., 2009) ; et il devient cationique quand le pH est inférieur au pKa intrinsèque de la fonction amine du chitosane soit 6,3. À un pH supérieur ($>6,5$), les groupements ne sont plus ionisés et le chitosane se précipite (RINAUDO et al.1993).

III.3.3. Viscosité

La viscosité dynamique est une grandeur physique qui caractérise la résistance à l'écoulement laminaire d'un fluide incompressible. La viscosité dynamique de la solution du chitosane a été déterminée à l'aide d'un viscosimètre numérique, Des solutions de chitosane à différentes concentrations ont été préparées et analysées au viscosimètre à température ambiante (Tableau 7 et Figure 30).

Tableau 7. Résultats de la viscosité dynamique de différentes solutions de chitosane.

[Cs] g/ml	0.01	0.005	0.0078
Viscosité dynamique mPa.s	2173.3	1151.3	1917.5

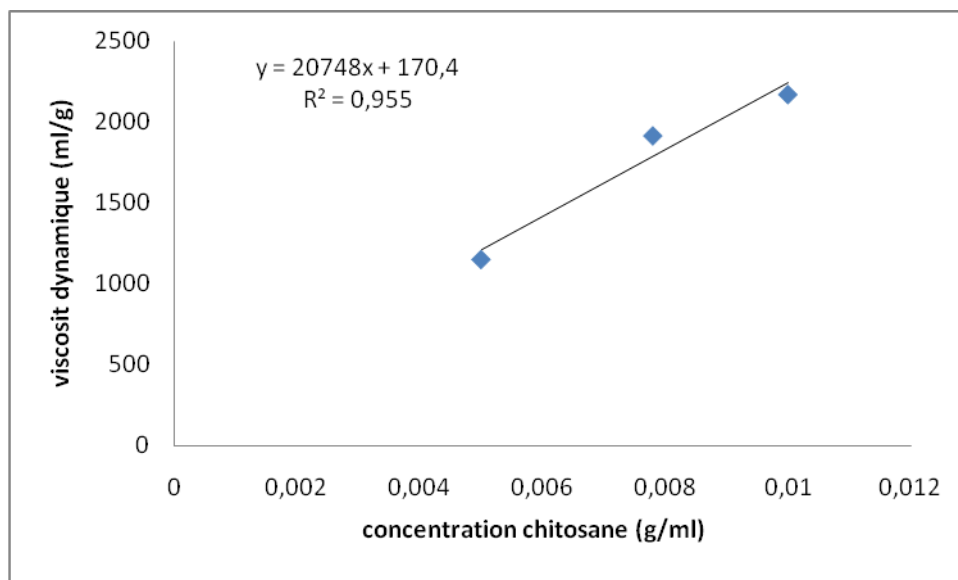


Figure 30. Détermination de la viscosité intrinsèque du chitosane.

La projection de la droite l'axe des y représente la viscosité intrinsèque, méthode de calcul sert à tracer le graphe $\eta=f(c)$.

Donc : pour $X=0$, $\eta= 170$ ml/g

La viscosité du chitosane produit est de 170 ml/g elle dépend essentiellement de la concentration, de sa masse molaire, de sa température ainsi que de son DD. Plus il est désacétylé, plus il y a des groupements amine libres et plus il est soluble, et plus sa viscosité est importante.

III.3.4. Poids moléculaire

La méthode choisie pour la détermination de la MM nécessite la connaissance de la viscosité intrinsèque $[\eta]$ des polymères ainsi que les paramètres k et a . Les valeurs prises par ces derniers dépendent de la nature du solvant, de sa concentration et de la température (KASAAI, 2007). Dans notre cas, pour le solvant utilisé CH_3COOH à 1% et une température de 20°C : $a = 0.93$ (sans dimension) ; $k=1.81 \cdot 10^{-3}(\text{dl.g}^{-1})$.

La masse molaire moyenne est déterminée par la mesure de la viscosité en utilisant de l'équation Mark Houwink (RINAUDO et DOMARD, 1998) :

$$[\eta] = K * M^a \quad (\text{III.3.4})$$

Avec $[\eta]$: viscosité intrinsèque, $[M]$: poids moléculaire.

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

III.3.5. Qualité du chitosane produit

II.3.5.1. Degrés de déminéralisation et de déprotéinisation

Afin d'évaluer l'efficacité des traitements de déminéralisation et de déprotéinisation effectués sur les coproduits de crevettes, la teneur du chitosane en protéines et cendres résiduelles a été déterminée. Les résultats sont mentionnés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 8. Degrés de déminéralisation et de déprotéinisation du chitosane produit.

	Chitosane produit
DM (%)	100
DP (%)	63.2

Le degré de déminéralisation est de 100% (Figure 31), ce qui signifie une élimination complète des matières minérales malgré leur présence en forte proportion dans la carapace des crevettes (39,88%),

Un taux d'élimination des cendres de l'ordre de 53.31 % a été rapporté par HADDAB et KORTBI (2020), après un traitement acide (HCL) à 50°C des carapaces des crustacés. L'élimination totale des minéraux durant cette étude a été possible grâce à l'utilisation d'une plus grande température (70°C).



Figure 31 : Déminalisation du chitosane, a. creuset avant passage au four à moufle. b. Creuset après passage au four à moufle.

Bien que le degré de déprotéinisation (63,2%) soit inférieur à ceux rapportés par HADDAB et KORTBI (2020), KEFIL (2020) ainsi qu'OULHIZ (2018), le traitement appliqué (NaOH) (12,5N) dans la présente étude est plus efficace car le maximum de protéine a été déjà éliminé durant l'étape de prétraitement des carapaces de crevettes, d'ailleurs la teneur totale en protéine est plus faible que celles rapportées par ces auteurs.

III.3.5.2. Degré de désacétylation du chitosane par résonance magnétique nucléaire RMN

La RMN ^1H est une méthode très utilisée pour la détermination du DDA du chitosane. La technique s'avère rapide, précise, reproductible, robuste, stable et ne nécessite qu'une petite quantité de chitosane (LAVERTU et *al*, 2003).

À partir des spectres présentés ci-dessus, le degré de désacétylation (DD) peut être déterminé en comparant l'intégralité du pic de résonance à 2 ppm environ, correspondant aux protons du CH_3 du groupe acétyl, par rapport aux protons H2-H6 du cycle glucosidique, situés entre 3 et 4,4 ppm (VO, 2013).

L'analyse du degré de désacétylation par RMN a permis l'obtention des spectres présentés là-dessous :

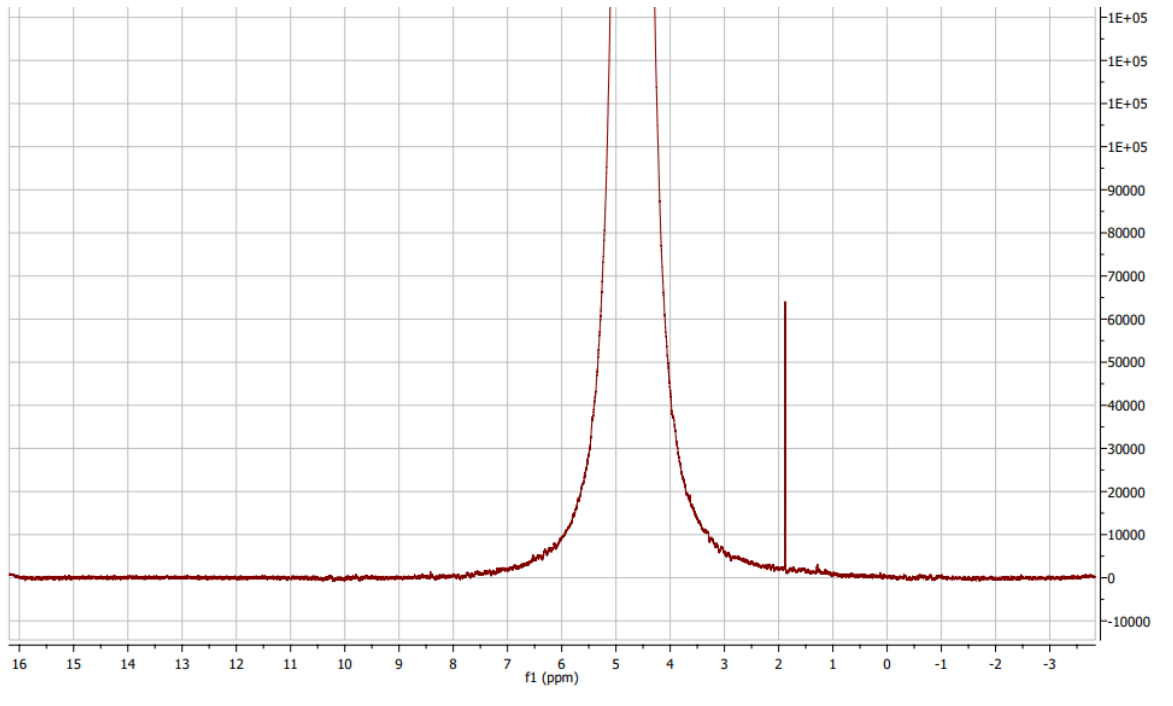


Figure 32. Spectre RMN 1H du chitosane extrait.

Le DDA du chitosane produit est de 98.8%. Selon OULHIZ (2018), Un DD élevé indique que le chitosane est de bonne qualité.

III.4. Activité anti *Legionella pneumophila* du chitosane produit

Pour l'évaluation de l'activité anti *L.pneumophila*, des tests ont été effectués par la méthode de diffusion des disques sur gélose. Les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés afin d'estimer l'activité antagoniste du chitosane vis-à-vis de ce germe. Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 9 et Figure 33.

Tableau 9. Pouvoir anti-*Legionella pneumophila* du chitosane produit.

Solution	Diamètre d'inhibition
Chitosane produit + acide acétique	$\Phi = 3,6$ cm
Chitosane produit + eau distillée	$\Phi = 10$ mm
Acide acétique	$\Phi = 3,5$ cm
Chitosane commercial + acide acétique.	$\Phi \leq 6$ mm
Chitosane commercial + eau distillée.	$\Phi \leq 6$ mm
Témoin positif : eau de Javel	$\Phi = 5$ cm
Témoin négatif : eau distillée	$\Phi < 6$ mm

$\Phi < 6$ mm : pouvoir bactéricide nul.

Nous avons noté une petite activité du chitosane produit dissout dans l'eau distillée vis-à-vis de l'ATCC33152.

On remarque aussi une activité pour le chitosane dissout dans l'acide acétique à (1%) il est à noter que ce dernier possède d'ores déjà une activité antagoniste. Par contre, aucune activité antagoniste de la solution du chitosane commercial dans l'acide acétique n'a été observée.

Ces résultats concordent avec ceux de FUJIMOTO (FUJIMOTO *et al.* 2006) qui ont rapportés que le chitosane avait un effet anti-légionelle efficace mais en présence d'autres acides organiques et en dilution dans l'eau de mer. C'est donc une action synergique des acides et du chitosane.



- 1 : Eau distillée.
- 2 : Poudre de crevettes + Eau distillée
- 3 : Chitosane commercial + eau distillée.
- 4 : Acide acétique.
- 5 : Chitosane extrait + acide acétique.
- 7 : Eau de javel.
- 9 : Chitosane extrait + eau distillée

Figure 33. Résultats du test anti-*Legionella pneumophila* du chitosane

III.5. Traitement d'une eau contaminée par *Legionella pneumophila*

III.5.1. Décontamination par évapoconcentration

Pour étudier l'efficacité de l'évapoconcentrateur dans le traitement anti-légionnelle de l'eau, on a procédé à une série de tests consistant à ensemencer 1 L d'eau avec la souche ATCC33152 à raison de 0.1 MCF.

Après avoir verser la solution à l'intérieur de l'évapoconcentrateur et régler les plaques de façon à ce que la température de l'eau atteigne les 90°C, le dispositif est laissé durant environ 4h à 5h (temps d'évaporation de la totalité de l'eau). Le

Tableau 10 représente les résultats obtenus après incubation, avant et après le traitement.

Tableau 10. Résultats de décontamination de l'eau par évapoconcentration.

Date	Concentration Avant UFC/l	Concentration après UFC/l	Taux d'abattement
21/06/2021	289×10^5	0	100%
22/06/2021	314×10^5	0	100%
23/06/2021	280×10^5	0	100%
29/06/2021	320×10^5	0	100%
07/07/2021	420×10^5	0	100%

Au regard du tableau 10, nous constatons un abattement total des légionnelles après décontamination à l'évapoconcentrateur. Il est a signalé que ce dispositif n'a jamais été testé contre ce germe.

Le Tableau 11 met en évidence l'efficacité du dispositif dans la désinfection des eaux contaminés.

Tableau 11 : Taux d'abattement des germes par évapo-concentration selon la littérature.

	Présente étude	IGOUD et al (2017)		
Contaminants	<i>Legionella pneumophila.</i>	Coliformes totaux	Coliformes fécaux	Streptocoques fécaux
Moyenne des pourcentages d'abattement	100%	96%	100%	100%

Une élimination presque totale de tous les germes étudiés par IGOUD et al (2017) grâce à un évapo-concentrateur reproduisant le cycle naturel de l'eau (cycle hydraulique reposant sur le principe de changement de phase liquide-vapeur). Ce procédé a été baptisé SOWAT de l'acronyme solar wastewater (brevet INAPI, 2012). En effet en 2012, ce procédé de distillation solaire à effet de serre a été expérimenté avec des eaux usées urbaines. Les résultats obtenus sont comparables à ceux des stations d'épuration. Mieux encore, les eaux épurées ont été désinfectées. Il y a eu élimination des germes de contamination fécale, des germes pathogènes tels que *Vibrio*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* et les anaérobies sulfito-réducteurs dont les *Clostridium*. Cette désinfection est le résultat de l'effet des rayonnements solaires (UV solaires) et de la chaleur (la température à l'intérieur de l'enceinte variait entre 70°C et 80°C). Cette augmentation de la température est à l'origine de changement de phase de l'eau liquide-vapeur (évaporation) ensuite vapeur –liquide (condensation), qui n'est rien d'autre qu'une distillation. Dans la présente expérimentation, la température a été réglée à 90°C, grâce à des plaques chauffantes afin d'accélérer ce processus et d'augmenter son efficacité face aux légionnelles. Dans une autre expérimentation, les effluents d'une industrie laitière ont été traités dans un premier lieu par biométhanisation suivie d'une évapo-concentration (ZIDANE et CHIBANE,2019).

L'évapo-concentration a permis non seulement l'abattement de la matière organique et minérale mais aussi la désinfection et l'élimination des germes d'altération et des germes indicateurs de la contamination d'origine fécale. L'eau épurée est de bonne qualité, elle pourrait être éventuellement réutilisée pour l'irrigation des cultures industrielles et céréalière.

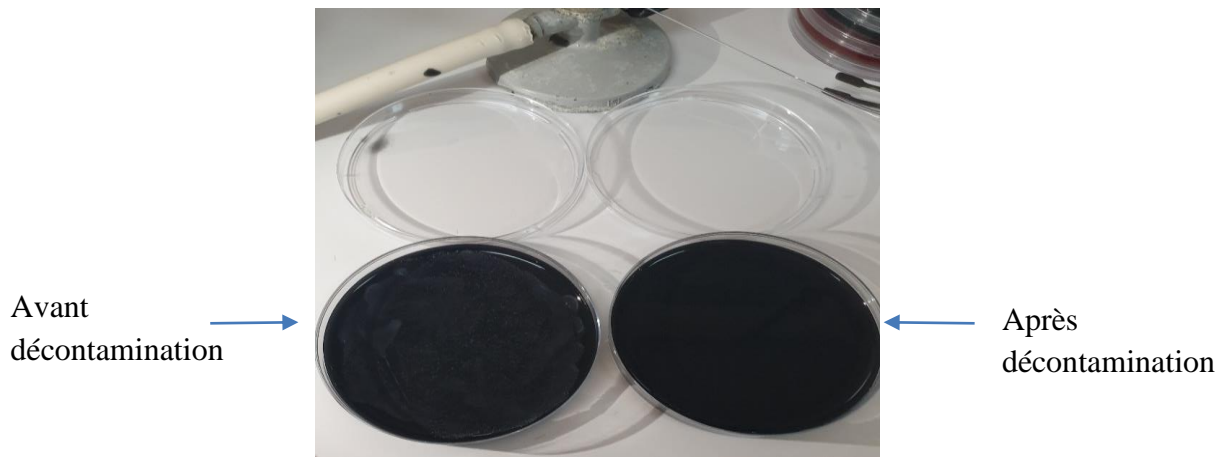


Figure 34. Mise en évidence de l'élimination des légionnelles sur milieu gélosé après traitement des eaux contaminées par évapoconcentrateur (culture négative).

III.5.2. Etude comparative des différentes méthodes de traitement d'une eau contaminée par *L.pneumophila*

a. Avec chauffage

L'eau contaminée avec *L.pneumophila* à 0.1 MC Farland a été soumise à différents traitements en utilisant une énergie renouvelable "les rayonnement solaires". Afin d'optimiser la décontamination des eaux par chitosane-rayonnements solaires, la température a été réglée à 70°C. Cette série d'expérimentations a été effectuée dans des flacons en verre, et en triplicate. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau 12 et illustrés dans la figure 35 :

Tableau 12. Effet du chauffage sur l'efficacité des différentes méthodes de traitement des eaux contaminées par *L.pneumophila*

Dates	[C]Avant traitement UFC/L	[C] Apres traitement CC UFC/L	% d'abattement	[C]Apres traitement SC UFC/L	% d'abattement	[C] Apres traitement CSC UFC/L	% d'abattement	Rayonnement global sur surface horizontale G_HOR (W/m ²)
08-juil	4.20*10 ⁷	0	100	0	100	0	100	668,137745
11-juil	3.60*10 ⁷	0	100	0	100	0	100	757,275416
12-juil	5.60*10 ⁷	0	100	0	100	5*10 ²	99,99	406,101248

CC : Chitosane-UV solaires avec Chauffage, SC : SODIS + Chauffage, CSC : Chitosane-UV solaires Sans chauffage

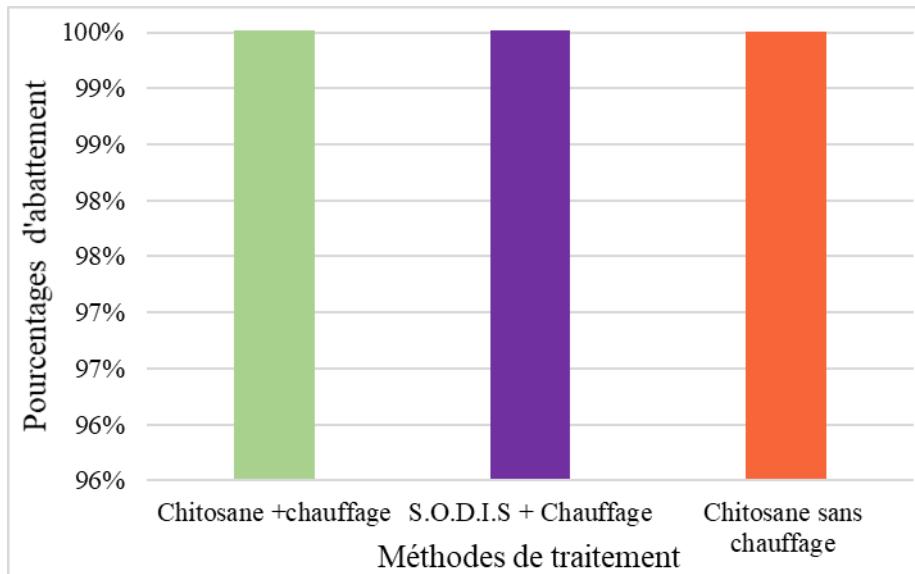


Figure 35. Taux d'abattement de *L.pneumophila* avec les méthodes incluant le chauffage

Une élimination totale du germe a été constatée, il apparaît que le traitement avec le chitosane-UV solaires est suffisant pour une épuration complète de l'eau. Le chauffage est donc facultatif dans ce processus.

b. Sans chauffage

Afin de confirmer les résultats des essais précédents, l'eau contaminée avec le même germe à la même concentration a été soumise à différents traitements sans chauffage.

Dans un premier temps nous avons testé la sensibilité de *Legionella pneumophila* au rayonnements solaires. La méthode SODIS a été réalisée dans des flacons en PET, et en triplicate. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau 13 :

Tableau 13. Résultats de la décontamination par photolyse.

	UV solaires + agitation pendant 6h		
	[C] <i>en Legionella pneumophila</i> UFC/L	% d'abattement	Rayonnement global sur surface horizontale G_HOR (W/m ²)
Avant S.O.D.I.S	15 × 10 ⁶	/	
Après S.O.D.I.S 1	0	100	543,80458
Après S.O.D.I.S 2	0	100	
Après S.O.D.I.S 3	0	100	

La méthode SODIS se montre très efficace dans la désinfection de l'eau, sachant que la concentration initiale en légionelle est très importante (au-dessus des valeurs rencontrées habituellement dans les eaux contaminées qui varient entre 01.10³ et 60.10³ UFC/L) (JARRAUD, 2006) (BENABOU et al.2009).

Dans un second temps, la photocatalyse au TiO₂, chitosane-UV solaires, poudre de carapaces de crevettes-UV solaires ont été expérimentés. Une série d'essais a été effectuée dans des flacons en PET, et en triplicate (21/22 /23 juin). Les taux d'éliminations de la légionelle en fonction des traitements et des intensités lumineuses sont consignés dans le tableau 14 et illustrés dans la figure 36.

Tableau 14. Taux d'abattement de *L.pneumophila* selon les différentes méthodes de traitement

Date	[C] Avant traitement UFC/L	[C] Après traitement TiO ₂ UFC/L	% d'abattement	[C] Après traitement chitosane UFC/L	% d'abattement	[C] Après traitement poudre UFC/L	% d'abattement	[C] Après traitement S.O.D.I.S UFC/L	% d'abattement	Rayonnement global sur surface horizontale G_HOR (w/m ²)
22- juin	3.14 *10 ⁷	5.2*10 ⁴	99,83	6.9*10 ³	99,98	0	100	0	100	792,165363
23- juin	2.80*10 ⁷	9.6*10 ⁴	99,66	1.15*10 ⁴	99,96	0	100	0	100	766,753796
21- juin	2.89*10 ⁷	1.56*10 ⁵	99,46	2.98*10 ⁴	99,9	3*10 ⁻³	99,99	0	100	702,883023

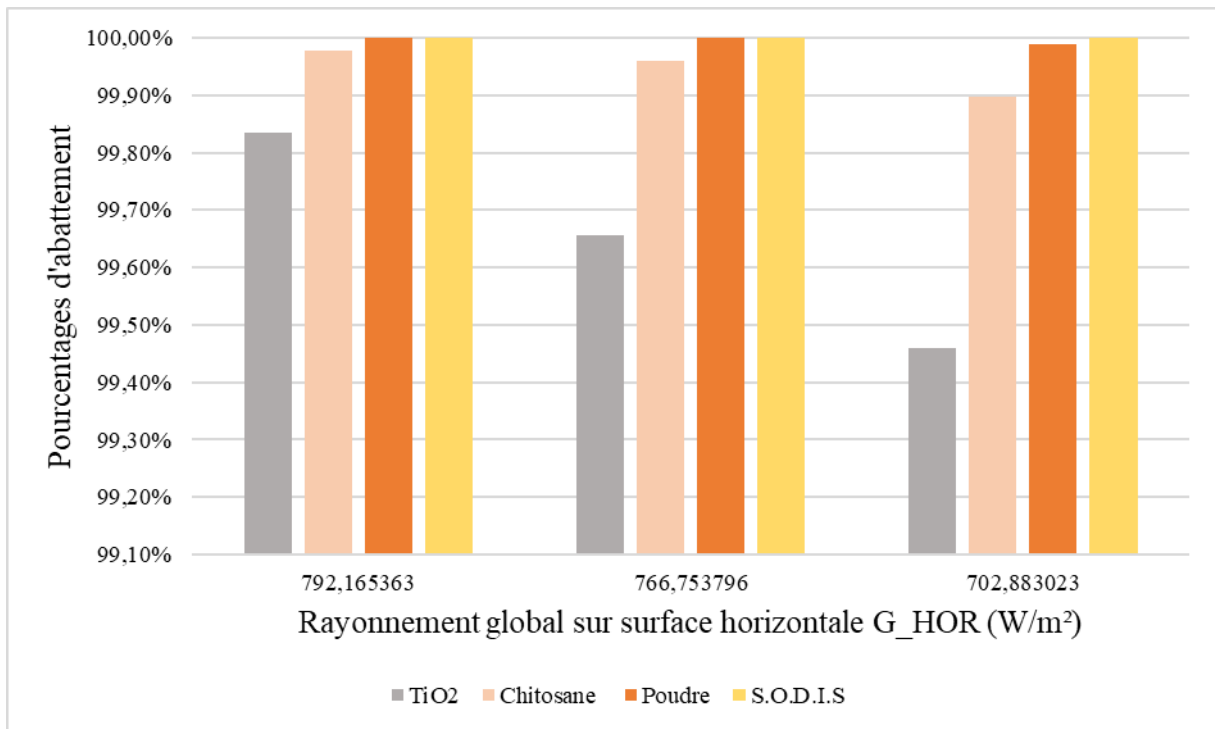


Figure 36. Taux d’abattement de *L.pneumophila* avec les différentes méthodes de traitement en fonction du rayonnement global

Au regard, des résultats obtenus selon les différentes méthodes de traitements avec un rayonnement global relativement équivalent, nous constatons un taux d’élimination de 100% en ce qui concerne l’eau traitée avec de la poudre de carapace de crevettes et celle traitée par la méthode S.O.D.I.S.

La décontamination à l’aide du chitosane-UV solaires a engendré un taux d’abattement supérieur à 99,9%.

Par ailleurs, un taux minimal de 99.40% a été enregistré pour l’eau décontaminée à l’aide de la photocatalyse, Ceci est peut-être dû au fait que l’eau mélangée au TiO₂ devienne colorée et trouble, ce qui diminue la pénétration des rayons UV-solaires. Il semblerait que celle-ci soit sensible à l’augmentation de l’intensité lumineuse.

La tableau 15 et la figure 37 mettent en évidence une comparaison des performances des différentes méthodes utilisées.

Tableau 15. Pourcentages moyens d'abattement de *L.pneumophila* selon les différentes méthodes de traitement (photocatalyse, SODIS avec et sans chauffage, chitosane-UV solaires avec et sans chauffage et poudre de crevette)

Méthodes	Flacons en PET					Flacons en verre			
	Photocatalyse	Chitosane	Poudre	SODIS	SODIS 2	Chitosane + chauffage	S.O.D.I.S + Chauffage	Chitosane sans Chauffage	
Moyenne des pourcentages d'abattement (%)	99,65%	99,94%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	
Rayonnement global sur surface horizontale G_HOR (w/m ²)	753,9340607					543,80458	610,504803		

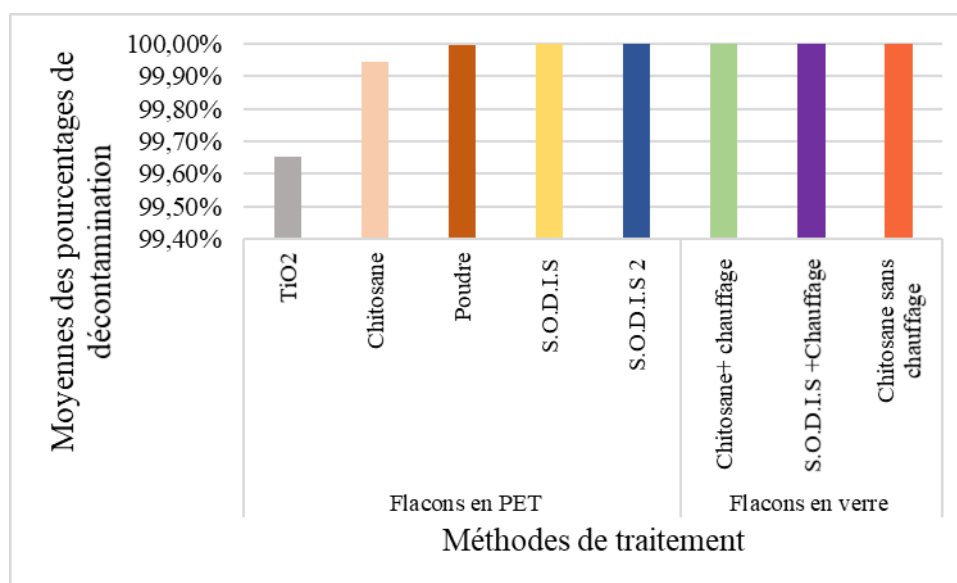


Figure 37. Pourcentages moyens d'abattement de *L.pneumophila* selon les différentes méthodes de traitement (photocatalyse, SODIS avec et sans chauffage, chitosane-UV solaires avec et sans chauffage et poudre de crevette)

Après observation des tableaux et figures ci-dessus, nous constatons que le pourcentage moyen minimal d'élimination de *L.pneumophila* présente dans l'eau est de 99.6%. La réglementation impose un taux maximal de 10³ UFC/L dans les réseaux (AFNOR, 2003). De ce fait, les résultats obtenus sont très satisfaisants car les concentrations initiales des

expérimentations sont largement supérieures à celles retrouvées habituellement dans les réseaux.

Il est tout de même important de noter l'efficacité des méthodes ne nécessitant pas de chauffage et qui ont permis un taux de décontamination supérieur à 99,9%.

Les travaux expérimentaux sur la photolyse et photocatalyse de MOUSSAOUI et BOUMRAR (2011), LAAMA (2012) et de IGOUD et *al* (2015) montrent clairement que les radiations solaires sont un facteur important dans la réduction de la concentration des indicateurs de contamination fécale et des micro-organismes pathogènes qui leur sont associés. Le maximum d'abattement est enregistré après 6 heures d'exposition au soleil pour les coliformes fécaux (100%), suivi des levures (96%) et des staphylocoques (83%).

Ces résultats peuvent être expliqués par l'inactivation des bactéries sous l'effet des rayonnements solaires. L'inhibition serait due à l'action des UVA, du visible et surtout des UVB via une action directe sur l'ADN des microorganismes (BEN MOUSSAOUD 2009, MALATO et al, 2009)

Selon MAIGA (2010), la sensibilité des micro-organismes aux UV est variable, Les bactéries Gram négatif seraient plus résistantes que les bactéries Gram positif du fait de la protection conférée par le lipopolysaccharide de la paroi des bactéries à Gram négatif, qui constitue une barrière pour les composés toxiques générés lors de la photolyse de l'eau.

Suite à ces expérimentations, et à l'efficacité de ces procédés de décontamination, nous déduisons qu'il est possible de remplacer le traitement par photocatalyse par le traitement à l'aide du chitosane pour la même concentration (1.5 g/l) et dans les mêmes conditions nous obtenons des résultats semblables voir supérieurs en faveur du chitosane. Etant donné que c'est une molécule naturelle, non polluante et non toxique, il serait plus judicieux d'étendre cette pratique et d'étudier sa faisabilité à grand échelle.

Toutes ces méthodes de traitement se valent, elles ont toutes démontrées une efficacité remarquable, de ce fait le choix de la méthode reposera exclusivement sur l'ampleur de la contamination et les volumes à traiter.

Conclusion Et Perspectives

Conclusion et perspectives

Cette étude a pour objectif principal la valorisation des co-produits de crustacés en vue d'une application dans l'épuration des eaux contaminées par les légionnelles.

Ce travail est basé sur l'extraction du chitosane à partir des carapaces de crevettes *Parapenæus longirostris* et son exploitation pour son potentiel antibactérien dans le traitement des eaux contaminées par *Legionella pneumophila*.

La détermination de la composition biochimique des carapaces de crevettes a montré un taux important de minéraux, de protéines ainsi que des polysaccharides dont la chitine.

Le chitosane obtenue par extraction chimique est de bonne qualité, avec un DD de (98,9%), une solubilité excellente dans l'acide acétique et un poids moléculaire de 223 kDa, idéal pour le traitement des eaux.

Le Test anti-*Legionella pneumophila* du chitosane a révélé une faible activité antagoniste de ce polysaccharide, mais sa dilution dans l'acide acétique donne une activité remarquable, il s'agit vraisemblablement d'une action synergique du chitosane et des acides organiques.

Le traitement des eaux contaminées par *L.pneumophila* par évapoconcentration a donné un excellent résultat, puisque, nous avons obtenu un taux d'abattement de l'ordre de 100%, c'est l'équivalent d'une stérilisation.

La décontamination de l'eau par photolyse (S.O.D.I.S), photocatalyse (TiO_2), Chitosane et poudre ont donné des résultats relativement proches avec un taux de décontamination supérieur à 99%.

Il est possible de remplacer la TiO_2 par la poudre de carapaces de crevettes ou le chitosane de par leur efficacité et leur respect de l'environnement.

Le traitement de l'eau contaminée par la légionnelle par photolyse ne nécessite pas de chauffage, ainsi que d'autres techniques de finition, ce qui en fait une méthode très efficace, accessible et non onéreuse.

On peut conclure qu'à partir des résultats obtenus, la valorisation biotechnologique des co-produits de crevettes ainsi que l'utilisation de l'énergie solaire méritent une attention particulière et notamment dans le domaine de la décontamination des eaux.

Il serait donc intéressant à l'avenir de :

- Etudier l'aspect économique et la rentabilité de l'extraction du chitosane à partir des co-produits de crevettes.
- Etudier la faisabilité de ce projet à grande échelle dans le traitement des eaux contaminées et des eaux usées.

Conclusion et perspectives

- Tester le pouvoir adsorbant du chitosane dans le traitement des eaux contaminées et des eaux usées.
- Expérimenter le procédé SOWAT dans le traitement des eaux contaminées par les légionnelles.
- Tester l'efficacité d'un système hybride en couplant deux méthodes afin de traiter une eau contaminée par *Legionella pneumophila*.
- Trouver la concentration optimale en TiO₂, poudre et chitosane pour purifier les eaux contaminées par les légionnelles.
- Optimiser le procédé d'extraction du chitosane à partir des co-produits de crevettes afin d'augmenter son rendement.
- Etudier d'autres caractéristiques du chitosane, notamment ses propriétés pharmacologiques (activité analgésique, antioxydante, antidiabétique et antihypertensive).
- Mettre en application le potentiel gélifiant et la viscosité du chitosane dans divers domaines.
- Explorer les activités biologiques des autres constituants des coproduits de crevettes tel que les pigments, les protéines et les minéraux.
- Tester la possibilité de récupérer et réexploiter le chitosane après son utilisation dans le traitement des eaux.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

AFNOR. (2003). Qualité de l'eau - Recherche et dénombrement des Legionella spp et Legionella pneumophila. Méthode par ensemencement direct et après concentration par filtration sur membrane ou centrifugation. (NF T90-431). [en ligne]. [Consulté le : 23/08/2021]. Disponible sur le web : <https://www.boutique.afnor.org/norme/nf-t90-431/qualite-de-l-eau-recherche-et-denombrement-de-legionella-spp-et-de-legionella-pneumophila-methode-par-ensemencement-direct-et-ap/article/717733/fa117459>

AL SAGHEER, F., AL-SUGHAYER, M.A., MUSLIM, S., ELSABEE, M.Z. (2009). Extraction and characterization of chitin and chitosan from marine sources in Arabian Gulf. Carbohydrate Polymers, [en ligne] 410-419. [Consulté le : 26/07/2021]. Disponible sur le web : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861709000502>

ALLAN, C., HADWIGER, A. (1979). The fungicidal effect of chitosan on fungi of varying cell wall composition. Experimental Mycology, [en ligne] 285-287. [Consulté le : 15/08/2021]. Disponible sur le web : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0147597579800547>.

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 : 16/08/2021]. 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%3D20042795&usg=AOvVaw1lWBRXGXo7VZjqMJ9VWaw>

AOAC. (1980). Association of official analytical chemists. Official methods of analysis. Washington DC, [en ligne]. [Consulté le 27/07/2021]. Disponible sur le web: 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 : 15/08/2021]. Disponible sur le web: <https://law.resource.org/pub/us/cfr/ibr/002/aoac.methods.1.1990.pdf>.

AUDAT, B. (2013). Comment déterminer la structure des molécules organiques. [en ligne]. Fondation Maison de la Chimie. [Consulté le 21/08/2021]. Disponible sur le web : https://www.mediachimie.org/sites/default/files/RMN-molecules_organiques.pdf.

Références bibliographiques

- BARRETO CARDOSO, M., SIGNINI, R., CAMPANA-FILHO, S.** (2001). Sur la sonication de la chitine : effets sur sa structure et sa morphologie et influence sur sa désacétylation. Bulletin des polymères, [en ligne] 183-190. [Consulté le : 11/07/2021]. Disponible sur le web : <https://link.springer.com/article/10.1007/s002890170010>
- BARTOLI et DUSSEAU**, 1995 .Oxydants . In :Fleurette J,Freney J et Revery ME (ed.), Anticépsie et désinfection .ESKA.Paris 305-314. [Consulté le : 29/08/2021].
- BEKBÖLET, M.** (1997). Photocatalytic bactericidal activity of TiO₂ in aqueous suspensions of E. Coli. Water Science and Technology, [en ligne]. 95-100. [Consulté le : 05/09/2021]. Disponible sur le web: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0273122397002412>
- BENKABOUCHE, B-I.** (2015). Biologie et dynamique de la population de la crevette rose *parapenaeus longirostris* (Lucas, 1846) pêchée au niveau de la côte oranaise. [en ligne]. Thèse de doctorat. Sciences de l'environnement. Algérie : Universités d'Oran, 4p. [Consulté le 06/05/2021]. Disponible sur le web : <https://theses.univ-oran1.dz/document/13201592t.pdf>
- BIEMER, J.** (1973). Test de sensibilité aux antimicrobiens par la méthode de diffusion sur disque Kirby-Bauer. [en ligne]. 135 – 140. [Consulté le : 11/07/2021]. Disponible sur le web: <http://www.annclinlabsci.org/content/3/2/135.short>
- BOUALEM, Z., HOCINE, A.** (2018). Valorisation biotechnologique des coproduits de crevette rouge *aristeus antennatus* (Risso, 1816): Etude du pouvoir antioxydant et antimicrobien du chitosane. [en ligne]. Mémoire de master. Hydrobiologie marine et continentale. Algérie : Université Abdehamid Ibn Badis-Mostaganem, 40p. [Consulté le 26/07/2021]. Disponible sur le lien : <http://ebiblio.univmosta.dz/bitstream/handle/123456789/4109/m%c3%a9moire%20master%202018.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- BURKENROAD, MD.** (1963). The evolution of the eucarida, (crustacea, eumalacostraca), in relation to the fossil record. Tulane studies in geology, [en ligne]. [Consulté le : 23/08/2021]. Disponible sur le web : <https://journals.tulane.edu/tsgp/article/view/352>
- CAMCI-UNAL, G., POHL, N.** (2010). Détermination quantitative de la complexation des contaminants de métaux lourds par le polymère glucidique chitine. Journal of Chemical and

Références bibliographiques

Engineering Data, [en ligne] 1117-1121. [Consulté le : 11/08/2021]. Disponible sur le web : <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/je900552w>

CAO, W., ZHANG, C., HONG, P., JI, H. (2008). response surface methodology for autolysis parameters optimization of shrimp head and amino acids released during autolysis. food chemistry, 109, [en ligne] 176-183. [Consulté le : 28/06/2021]. Disponible sur le web : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26054279/>

CATALDO, S., CREA, F., GIANGUZZA, A., PETTIGNANO, A., PIAZZESE, D. (2009). Solubility and acid-base properties and activity coefficients of chitosan in different ionic media and at different ionic strengths, at T=25°C. Journal of Molecular Liquids, [en ligne] 120-126. [Consulté le : 12/06/2021]. Disponible sur le web : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167732209001573>)

CHENNIT, 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 : 17/07/2021]. Disponible sur le web : <http://univ-bejaia.dz/jspui/handle/123456789/7887>.

CRINI, G., BADOT, P-M., GUIBAL, E. (2009). Chitine et chitosane du biopolymère à l'application. [en ligne]. France : Besançon. Chap n°01, chitine et chitosane : préparation, propriétés et principales applications, 19p. [Consulté le : 13/07/2021]. Disponible sur le web : <https://books.google.dz/books?id=LHK3ZGbdHJMC&printsec=frontcover&hl=fr#v=onepage&q&f=true>.

CROSNIER, A., FOREST, J. (1973). Les crevettes profondes de l'Atlantique oriental tropical. [en ligne] 409. [Consulté le : 05/07/2021]. Disponible sur le web : https://books.google.dz/books?hl=fr&lr=&id=KfBL0qc0y-UC&oi=fnd&pg=PA7&dq=Crosnieret+Forest,+1973+&ots=QE0THRch_L&sig=aR_Z7xCBfI_12V8ltF2JAObtmbs&redir_esc=y#v=onepage&q=Crosnieret%20Forest%2C%201973&f=false

CUI, Z., MUMPER, R.J. (2001). Chitosan-based nanoparticles for topical genetic immunization. Journal of Controlled Release, [en ligne] 409-419. [Consulté le : 01/09/2021]. Disponible sur le web: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168365901004072>

Références bibliographiques

- DITOMMASO S, BIASIN C, GIACOMUZZI M, ZOTTI C M, CAVANNA A, RUGGENINI MOIRAGHI A. (2005).** Peracetic acid in the disinfection of a hospital water system contaminated with legionella species. *Infection control and hospital epidemiology* .VOL 26 . [en ligne]. Pages [490-493]. [Consulté le: 20/07/2021]. Disponible sur le web : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15954489/>
- DOUMAS, B-T., BAYSE, D-D., CARTER, R-J., PETERS, T., SCHAFFER, R. (1981).** A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. *Clinical Chemistry*, [en ligne] 1642-1650. [Consulté le : 19/08/2021]. Disponible sur le web : <https://academic.oup.com/clinchem/article/27/10/1642/5666464>
- DUBOIS M., GILLES K., HAMILTON J-K [et al.] (1956).** A colorimetric method for the determination of sugars. [en ligne]. *Nature*, 4265 : 167p. [Consulté le : 23/07/2021]. Disponible sur le web : <https://www.nature.com/articles/168167a0.pdf?origin=ppub>.
- 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: 03/08/2021]. Disponible sur le web: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304399108000922>
- EAWAG. (2008).** *Désinfection solaire de l'eau : la méthode*. [en ligne]. [Consulté le: 03/07/2021]. Disponible sur le web : <http://www.sodis.ch/Text2002/T-TheMethod.htm>
- 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: 03/04/2021]. 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. (2014).** Fisheries and Aquaculture Department (2014), *The State of World Fisheries and Aquaculture*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. [en ligne] Rome. [Consulté le : 17/07/2021]. Disponible sur le web : <https://afspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1080/03632415.2014.966265>

Références bibliographiques

FAO. (2020). Species fact sheets parapenaeus longirostris (Lucas, 1846). [en ligne] Rome. [Consulté le : 04/05/2021]. Disponible sur le web : <http://www.fao.org/fishery/species/2598/en>.

FELT, O., FURRER, P., MAYER, J.M., PLAZONNET, B., BURI, P., GURNY, R. (1999). Topical use of chitosan in ophthalmology: tolerance assessment and evaluation of precorneal retention. *International Journal of Pharmaceutics*, [en ligne] 185-193. [Consulté le : 13/08/2021]. Disponible sur le web : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517399000034>

FERNANDEZ-KIM, S.-O. (2004). Physicochemical and functional properties of crawfish chitosan as affected by different processing protocols, [en ligne]. [Consulté le : 02/06/2021]. 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&pg&ct=res&cd=0&d=13443800142769168945&ei=wgLIX534BdG1mAH93bfoAQ&scisig=AAGBfm3cx_JEKQT8FikxkqWptSKn4tyvA.

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 : 21/04/2021]. 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: 08/04/2021]. Disponible sur le web : <https://ci.nii.ac.jp/naid/10018844246>

FRANZIN L, FANTINO C, CABODI D. (2002). Evaluation of the efficacy of ultraviolet irradiation for disinfection of hospital water contaminated by *Legionella*. *Journal. of hospital infection VOL 51*, [en ligne] [Page 269-274], [Consulté le: 21/07/2021]. Disponible sur le web : <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0195670102912454>

GOULEAU, D., JOUANNEAU, J.M., WEBER, O., SAURIAU, P.G. (2000). Short- and long-term sedimentation on Montportail–Brouage intertidal mudflat, Marennes–Oléron Bay (France). *Continental Shelf Research*, [en ligne] 1513-1530. [Consulté le : 06/07/2021]. Disponible sur le web : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278434300000352>

GRIMES, S. (2004). Biodiversité marine et littorale algérienne. Djazaïr, Université Es Senia, Oran, [en ligne] 362 p. [Consulté le : 03/04/2021].

GUTIERREZ-MARTINEZ, P., RAMOS-GUERRERO, A., RODRIGUEZ-PEREIDA, C., CORONADO-PARTIDA, L., ANGULO-PARRA, J., GONZALEZ-ESTRADA, R. (2018). Chapter 12 - Chitosan for Postharvest Disinfection of Fruits and Vegetables. Academic Press, [en ligne] 231-241. Consulté le : 05/09/2021]. Disponible sur le web : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128126981000121>

HADDAB, M., KORTBI R. (2020). Extraction de biomolécules à haute valeur ajoutée à partir des coproduits de crustacés en vue d'une valorisation comme ingrédients fonctionnels dans les domaines alimentaires et pharmaceutiques. [en ligne] Mémoire d'ingénieur et de master en sciences de la mer , option : Biotechnologie Marine, Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral. 98p. [Consulté le 01/04/2021]

HALIM A-S., KEONG L-C., ZAINOL I [et al.] (2011). Biocompatibility and biodegradation of chitosan and derivatives. In : SARMENTO B et NEVES J-D. Chitosan baseds systems for biopharmaceuticals : delivery, targeting, and polymer herapeutics. [en ligne]. Chichester, west sussex : john wiley & sons, 15p. [Consulté le : 01/09/2021]. Disponible sur le web : 10.1002/9781119962977.CH4.

HOLTUIS, L-B. (1987). Crevettes. In : FISHER W., SCHNIDER M et BAUCHOT M-L. Fiches FAO d'identification des espèces pour des besoins de la pêche, mediterranee et mer noire. 1. 190p.

HSIAO, H-Y., TSAI, C-C., CHEN, S-M., HSIEH, B-C., CHEN, R-L-C. (2004). Spectrophotometric determination of deacetylation degree of chitinous materials dissolved in phosphoric acid. *Macromol Biosci*, 4(10), [en ligne] 919-921. [Consulté le: 20/07/2021]. Disponible sur le web : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/mabi.200400084>

IGOUD, S., SOUABI, F., CHITOUR, CE. (2017). Solar wastewater treatment (SOWAT) and reuse for agricultural irrigation. Wiley Online Library. [Consulté le: 23/05/2021].

JAMAILLOUX, Y., JARRAUD, S., LINA, G., ETIENNE, J., ADER, F. (2012). *Legionella*, légionellose, *Legionella*, Legionnaires disease. *Med Sci (Paris)* 28 [en ligne]. 639–645 [Consulté le : 31/07/2021]. Disponible sur le web : https://www.medecinesciences.org/en/articles/medsci/full_html/2012/08/medsci2012286-7p639/medsci2012286-7p639.html

Références bibliographiques

JARRAUD S, FRENEY J (2006). Legionella. Paris : TEC & DOC Lavoisier. Chapitre n°01, Historique, 1p. Chapitre n°01, Taxonomie, 11p. Chapitre n°05, Diagnostic des légionelloses et traitement, 87p.

JAYAKUMAR, R., NWE, N., TOKURA, S., TAMURA, H. (2007). Sulfated chitin and chitosan as novel biomaterials. International Journal of Biological Macromolecules, [en ligne] 175-181. [Consulté le : 17/08/2021]. Disponible sur le web : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813006002029>.

JEON, Y-J., ARACHCHI J-K-V., SHAHIDI, F. (2002). Chitosane comme film invisible comestible pour la conservation de qualité du hareng et de la morue de l'Atlantique. 50 (18), [en ligne] 5167-5178. [Consulté le : 22/07/2021]. Disponible sur le web : <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf011693l>

JEUNIAUX, C., THOME, JP. (1990). Production, extraction et utilisation technologique de la chitine à partir de communautés marines. Oceanis, 16 [en ligne] 375-382 [Consulté le: 10/06/2021]. Disponible sur le web: <https://orbi.uliege.be/bitstream/2268/190152/1/ChitineMarines.pdf>

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: 13/05/2021]. 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

JUN, H-K., KIM, J-S., NON, H-K., MEYERS, S. (1994). Chitosan comme coagulant pour la récupération des solides protéiques des eaux usées de tofu, 42, [en ligne] 1834-1838. [Consulté le : 17/07/2021]. Disponible sur le web : <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf00044a050>

KADA, M. (2020). TP2 : ANALYSE DE L'EAU, 5 ème année Biotechnologie marine. [Consulté le : 05/07/2021].

KASAAI, M. (2007). Calculation of Mark-Houwink-Sakurada (MHS) equation viscometric constants for chitosan in any solvent-temperature system using experimental reported viscometric constants data. Carbohydr Polym, 68(3), [en ligne] 477-488. [Consulté le:

Références bibliographiques

11/07/2021]. Disponible sur le web : <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0144861706005728>

KASAAI, M. (2009). Various Methods for Determination of the Degree of N-Acetylation of Chitin and Chitosan. *J Agric Food Chem*, 57(5), [en ligne] 1667-1676. [Consulté le : 19/08/2021]. Disponible sur le web : <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf803001m>

KATZ, SM., HAMMEL, JM. (1987). The Effect of Drying, Heat, and pH on the Survival of *Legionella pneumophila*. *Annals of clinical and laboratory science*, Vol. 17, No. 3. [en ligne]. 150-156. [Consulté le : 13/08/2021]. Disponible sur le web: [Consulté le: 12/08/2021]. Disponible sur le web : <https://www.jstor.org/stable/30113856>

KEFIL, S. (2020). Valorisation biotechnologique des coproduits de crevettes : Etude du pouvoir antimicrobien et anti-inflammatoire du chitosane. [en ligne] Mémoire d'ingénieur et de master en sciences de la mer , option : Biotechnologie Marine, Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral. 70p. [Consulté le 29/03/2021].

KHAN F., PHAM D-T-N., OLOKETUYI S-F., [et al.] (2019). Chitosan and their derivatives: antibiofilm drugs against pathogenic bacteria, *colloids and surfaces B: Biointerfaces*,185, [en ligne] 110627. [Consulté le 18/07/2021]. Disponible sur le web : <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110627>.

KRAJEWSKA, B. (2005). Membrane-based, processes performed with use of chitin/chitosan materials. *Separation and Purification Technologie*, [en ligne] 305-312. [Consulté le : 22/06/2021]. Disponible sur le web : <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1383586604002552>

KRAJEWSKA, B. (2005). Membrane-based processes performed with use of chitin/chitosan materials. *Separation and Purification Technology*, [en ligne] 305-312. [Consulté le : 13/07/2021]. Disponible sur le web : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383586604002552>.

LAAMA, C. (2012). Désinfection des eaux épurées par les UV solaires et artificiels Cas de STEP de Tipaza. Mémoire d'Ingénieur d'état en science de la mer. Alger. Ecole Nationale supérieure des sciences de la mer et d'aménagement de littoral. . 91 p.

LAVERTU, M., XIA, Z., SERREQUI, A.N., BERRADA, M., RODRIGUES, A., WANG, D., BUSCHMANN, M.D., GUPTA, A. (2003). A validated ¹H NMR method for the determination of the degree of deacetylation of chitosan. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Volume 32, Issue 6, [en ligne] 1149-1158. [Consulté le : 28/08/2021]. Disponible sur le web : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0731708503001559>

Références bibliographiques

- 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: 12/04/2021]. Disponible sur le web: <https://archimer.ifremer.fr/doc/00087/19828/>
- LEPRI, L., DESIDERI, P-G., MUZZARELLI, R-A-A.** (1977). Chromatographic behaviour of nucleic acid constituents and of phenols on chitosan thin layers. *Journal of Chromatography A*, [en ligne] 337-342. [Consulté le : 07/08/2021]. Disponible sur le web : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967300893292>
- 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 : 10/06/2021]. Disponible sur le web : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813019397156>
- LIU Z, STOUT JE., TEDESCO, L., BOLDIN, M., HWANG, C., DIVEN, WF., YU, VL.** (1994). Controlled Evaluation of Copper-Silver Ionization in Eradicating *Legionella pneumophila* from a Hospital Water Distribution System. *The Journal of Infectious Diseases*. Vol 169. No 4. 919-922.
- MAIGA, Y.** (2010). Processus d'élimination de *Escherichia Coli* et des Enterocoques des bassins de lagunage sous climat Sahélien : influence de la radiation solaire. Mémoire en vue de l'obtention du titre de docteur en sciences biologiques appliquées. Ouagadougou : Institut International d'Ingénierie de l'Eau et de l'Environnement. 138 p.
- MALATO, S., FERNANDEZ-IBANEZA, P., MALDONADO, M., BLANCO, J., GERNJAK, W.** (2009). Decontamination and disinfection of water by solar photocatalysis: Recent overview and trends. *Catalysis Today*. n° 147, 56 p.
- MEYER, N.** (2018). Simulation numérique de la viscosité de liquides : effets des paramètres d'interaction, de la température et de la pression sous conditions ambiantes et extrêmes, [en ligne] 242. [Consulté le : 04/09/2021]. Disponible sur le web : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01810298/document>
- MICHEZ, D., TERZO, M., RASMONT, P.** (2004). Phylogénie, biogéographie et choix floraux des abeilles oligolectiques du genre *Dasypoda* Latreille 1802 (Hymenoptera : Apoidea : Melittidae). *Annales de la Société entomologique de France (NS)*, [en ligne] 421-435. [Consulté le : 23/08/2021]. Disponible sur le web : <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00379271.2004.10697431>

Références bibliographiques

MOORJANI, MN., ACHUTHA, V., IMAM KHASIM, D. (1975). Paramètres influençant la viscosité du chitosane des déchets de crevette. [en ligne]. [Consulté le : 18/08/2021]. Disponible sur le web : <http://pascal.francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=PASCAL7678012203>

MORI, M., SARTOR, P., BIAGI, F. (2000). Diet of adult females of *Parapenaeus longirostris* (Crustacea, Decapoda) in the Northren Tyrrhenian Sea (Western Mediterranean), [en ligne]. [Consulté le: 05/04/2021]. Disponible sur le web : <http://www.stsn.it/images/pdf/serB107/Mori.pdf>.

MORIN-CRINI, N., LICHTFOUSA, E., TORRI, G., CRINI, G. (2019). Applications du chitosane dans l'alimentation, les produits pharmaceutiques, la médecine, les cosmétiques, l'agriculture, les textiles, les pâtes et papiers, la biotechnologie et la chimie environnementale. [en ligne] 1667-1692. [Consulté le : 01/09/2021]. Disponible sur le web : <https://link.springer.com/article/10.1007/s10311-019-00904-x>

MOUSSOU, A., BOUMRAR, H. (2012). Désinfection des eaux épurées par la méthode de SODIS pour l'amélioration de la qualité microbiologique eaux rejetées en mer. Mémoire en vue de l'obtention de diplôme d'Ingénieur d'état en science de la mer. Alger. Ecole nationale supérieure des sciences de la mer et d'aménagement de littoral. 2011. 73 p.

NATARAJAN T-S., KALYANASUNDARAM N., RAVI S (2017). Extraction and characterization of chitin and chitosan from achatinodes. [en ligne]. *Nat prodchemres.* 5 (5) : 281p. [Consulté le 07/08/2021]. Disponible sur le web : 10.4172/2329-6836.1000281.

NOUAR, A. (1985). Contribution a l'étude de la crevette peneide *Parapenaeus longirostris* (Lucas, 1846) dans la région d'Alger: Ecologie-Biologie-Exploitation.These Universite de Sciences et Technologie H. Boumediene (USTHB), [en ligne]. [Consulté le: 17/08/2021]. 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_NAtuVAAtRsea0bTz.

ONS. (2018). Les principaux indicateurs du secteur de la pêche (2018), N°875, [en ligne]. [Consulté le: 07/04/2021]. Disponible sur le web: https://www.ons.dz/IMG/pdf/indicateurs_peche2018.pdf

OULHIZ, A. (2018). Évaluation, valorisation et utilisation des coproduits de la crevette rouge *aristeus antennatus* (Risso, 1816) et du thon *thunnusthynnus* (Linné, 1758) pour l'alimentation du tilapia rouge (*oreochromis* sp.). [en ligne]. Thèse de doctorat. Ecologie et environnement marin. Algérie. Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem. 14-22-23-p. [Consulté le 03/06/2021]. Disponible sur le web : <http://e-biblio.univ-mosta.dz/handle/123456789/13260>.

Références bibliographiques

ÖZOGUL F., HAMED I., ÖZOGUL Y [et al.] (2018). Crustacean by-products. [en ligne]. 1-6p. [Consulté le: 16/06/2021]. Disponible sur le web: 10.1016/B978-0-08-100596-5.21690-9.

PERALTA, E.M., HATATE, H., KAWABE, D., KUWAHARA, R., WAKAMATSU, S., YUKI, T., MURATA, H. (2008). Improving antioxidant activity and nutritional components of Philippine salt-fermented shrimp paste through prolonged fermentation. Food Chemistry, 111, [en ligne] 72-77. [Consulté le : 19/07/2021]. Disponible sur le web : https://scholar.google.com.ph/citations?view_op=view_citation&hl=en&user=j8jvQb8AAAAJ&citation_for_view=j8jvQb8AAAAJ%3Ax6o8ySG0sC&fbclid=IwAR2NANsJjJr7N7nofebkSq6ACqni1StA84z5UTSzt2ywkkLW3Wn8R2w_Qyc

RANDRIAMAHATODY, Z. (2011). Valorisation biotechnologique des co-produits de crevette: utilisation de la protéolyse enzymatique pour des applications avicoles à Madagascar. [En ligne], Université d'Antananarivo. [Consulté le: 17/05/2021]. Disponible sur le web : <https://archimer.ifremer.fr/doc/00043/15456/12831.pdf>

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 : 15/08/2021]. Disponible sur le web: <https://link.springer.com/article/10.1007/s002530000449>

RAVONINJATOVO, M., RANDRIAMAHATODY, A., RAVONIZAFY, C., RAMANANJAONA, B., RAJAONARIVONY, M., RANDRIANATORO, H., RAJOELISAO, A. (2012-2014). Valorisation des coproduits de crevettes (*Penaeus sp.*) par hydrolyse enzymatique. Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux, 67 [en ligne] 87-140. [Consulté le : 07/06/2021]. Disponible sur le web : file:///C:/Users/pc-sony/Downloads/10173-Texte%20de%20l'article-10353-1-10-20150627.pdf

RINAUDO, M. 2006. Chitin and chitosane: properties and applications. [en ligne]. Progress in polymer sciences.31, 603-632p. [Consulté le 28/07/2021]. Disponible sur le web : <http://dx.doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001>

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 : 14/05/2021]. Disponible

sur le web: http://www.academia.edu/download/47415410/0141-8130_2893_2990027-j20160721-15508-lkfr6.pdf

SHAHIDI, F., ARACHCHI J-K-V., JEON, Y-J. (1999). Food applications of chitin and chitosans. Trends in Food Science & Technology, [en ligne] 37-51. [Consulté le : 05/07/2021]. Disponible sur le web : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224499000175>

SKORIK, Y., KRITCHENKOV, A., MOSKALENKO, Y., GOLYSHEV, A., RAIK, S., WHALEY, A., VASINA, L., SONIN, D. (2017). Synthesis of N-succinyl- and N-glutaryl-chitosan derivatives and their antioxidant, antiplatelet, and anticoagulant activity. Carbohydrate Polymers, Volume 166, [en ligne] 166-172. [Consulté le : 31/08/2021]. Disponible sur le web : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861717302278>

STOUT, J., RIHS, JD., YU, VL. (2003). Legionella. In: Murray PR(ed). Manual of Clinical microbiology 8th ed, vol 1 ASM press, Washington DC 809-823 [Consulté le: 30/08/2021]

TABOADA, E., CABRERA, G., CÁRDENAS, G. (2003). Capacité de rétention du chitosane pour les ions cuivre et mercure. [en ligne] [Consulté le : 09/08/2021]. Disponible sur le web : https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0717-97072003000100002&script=sci_arttext&lng=p

TAOUINT, A-N. (2016). Préparation de chitosanes à partir de la biomasse marine. Application au conditionnement des boues urbaines, [en ligne] 118. [Consulté le : 22/06/2021]. Disponible sur le web : <https://fshs.ummo.dz/bitstream/handle/ummo/765/THC%200363.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

THIBERT, E., SALIEGE, M., CHAPELLE, F.A., JOUANNET, M., TRAORE, O., SAUTOU, V. (2014). Essai de stérilité des préparations ophtalmiques sur milieu Reasoner's agar no 2 (R2A) : une solution pour diminuer le temps d'incubation. Le Pharmacien Hospitalier et Clinicien, 49(3), [en ligne] 197–203. [Consulté le : 30/08/2021]. Disponible sur le web : <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2211104213002208>

THOMAS, V., BOUCHEZ, T., NICOLAS, V., ROBERT, S., LORET, JF., LEVI, Y. (2004). Amoebae in domestic water systems: resistance to disinfection treatments and implication in Legionella persistence. Journal of Applied Microbiology ,97, [en ligne] 950–

Références bibliographiques

963. [Consulté le : 30/08/2021]. Disponible sur le web : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15479410/>

TOLAIMATE, A., DESBRIERES, J., RHAZI, M., ALAGUI, A. (2003). Contribution to the preparation of chitins and chitosans with controlled physico-chemical properties, *Polymer*, [en ligne] 7939-7952. [Consulté le : 14/07/2021]. Disponible sur le web : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032386103009364>

TOPCU, C., CAGLAR, B., ONDER, A., FATIH COLDUR, F., CAGLAR, S., GUNER, E-K., CUBUK, O., TABAK, A. (2018). Structural characterization of chitosan-smectite nanocomposite and its application in the development of a novel potentiometric mono-hydrogen phosphate-selective sensor. *Materials Research Bulletin*, [en ligne] 288-299. [Consulté le : 18/08/2018]. Disponible sur le web : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025540817325850>

TOSSA, P., DELOGE-ABARKAN, M., ZMIROU-NAVIER, D., HARTEMANN, P., MATHIEU, L. (2006). Pontiac fever: an operational definition for epidemiological studies. *BMC Public Health*. [En ligne]. 6 :112. [Consulté le : 25/08/2021]. Disponible sur le web : <https://bmcpublihealth.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2458-6-112>

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 : 18/06/2021]. Disponible sur le web : <https://www.erudit.org/en/journals/rseau/1900- v1-n1-rseau1812/016170ar/abstract/>

TSAO, C-T., CHANG, C-H., LIN, Y-Y., WU, M-F., WANG, J-L., YOUNG, T-H., HAN, J-L., HSIEH, K-H. (2011). Evaluation of chitosan/ γ -poly (glutamic acid) polyelectrolyte complex for wound dressing materials. *Carbohydrate Polymers*, [en ligne] 812-819. [Consulté le : 22/08/2021]. Disponible sur le web : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861710003012>

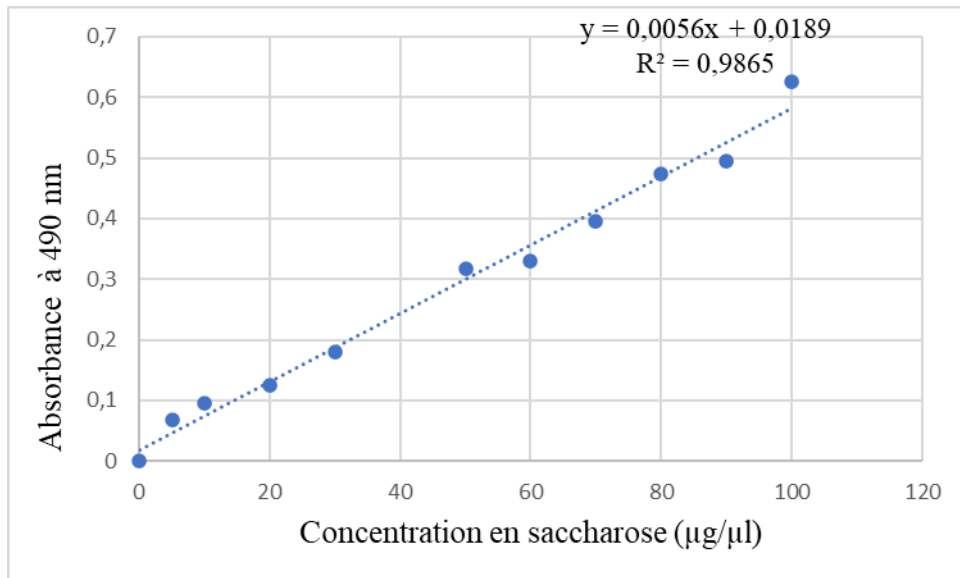
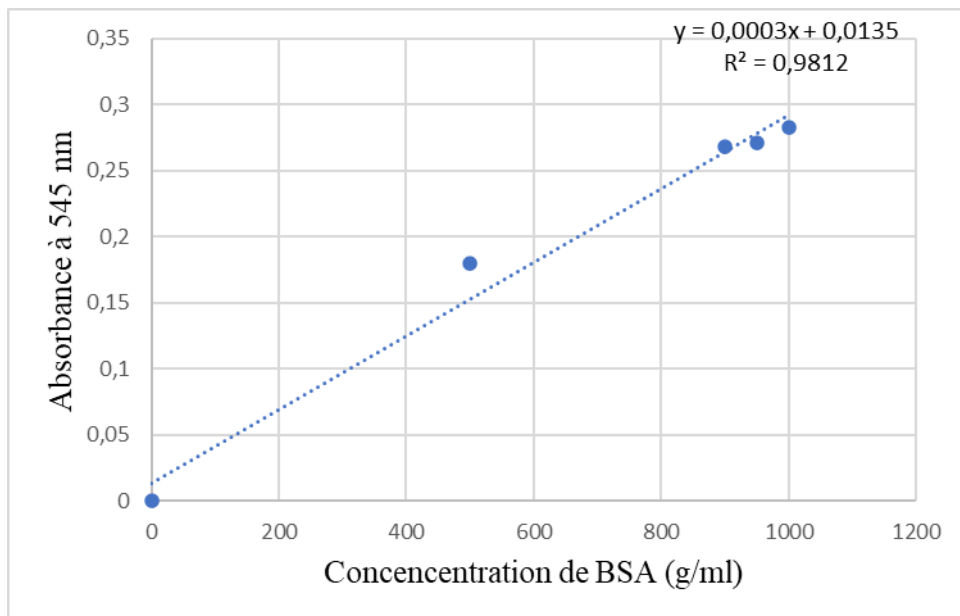
VISCA, P., GOLDONI, P., LÜCK, PC, HELBIG, JH, CATTANI, L., GILTRI, G., BRAMATI, S., CASTELLANI PASTORIS, M. (1999). Plusieurs types de *Legionella pneumophila* sérotype 6 dans un système d'eau chauffée d'un hôpital associé à des infections sporadiques. *Journal de microbiologie clinique*, 37 (7), [en ligne] 2189-2196. [Consulté le : 25/09/2021]. Disponible sur le web <https://doi.org/10.1128/JCM.37.7.2189-2196.1999>

Références bibliographiques

VO N-D-K (2013). Synthèse de nanoparticules d'or par irradiation de solution aqueuse d'ions Au(III) en présence de chitosane.[en ligne]. Thèse de doctorat. Chimie. France : Université de Reims Champagne-ardenne, 58p. [Consulté le : 12/07/2021]. Disponible sur le web : [file:///C:/Users/server/Downloads/34717_VO_2013_archivage%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/server/Downloads/34717_VO_2013_archivage%20(1).pdf).

WANG, S-L., LIANG, T-W., YEN, Y-H. (2011). Bioconversion of chitin-containing wastes for the production of enzymes and bioactive materials, Carbohydrate Polymers. [en ligne]. 732-742. [Consulté le : 31/08/2021]. Disponible sur le web : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861710004820>

Annexes

Annexe 01 : Courbes d'étalonnage de la composition biochimique des carapaces de crevettes.**Figure 38. Courbe d'étalonnage du dosage des sucres****Figure 39. Courbe d'étalonnage du dosage des protéines**

Annexe 02 : Matériel utilisé pour la caractérisation biochimique des carapaces de crevettes



Figure 40. Evaporateur rotatif.



Figure 41. Four à moufle

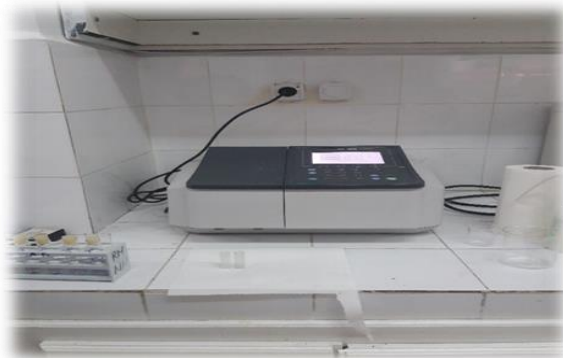


Figure 42. Spectrophotomètre UV- visible

Annexe 03 : Dispositif de mesure de la viscosité.



Figure 43. Viscosimètre NDJ-5

Annexe 04 : Aspect de la poudre de carapaces de crevettes après déminéralisation



Figure 44. Séchage de la poudre de crevettes après déminéralisation

Annexe 05 : Production de chitosane insoluble

Le premier essai d'extraction du chitosane a donné une poudre insoluble, contrairement à la poudre produite par la suite (le chitosane). En effet lors l'étape de déprotéinisation le ratio (1/10) n'avait pas été respecté, cette étape avait été effectuée avec un ratio de (1/100). La solution basique était 10 fois plus concentrée que nécessaire, par conséquent le polysaccharide a été dépolymérisé ce qu'il lui a fait perdre sa caractéristique de solubilité dans l'acide acétique à (1%).

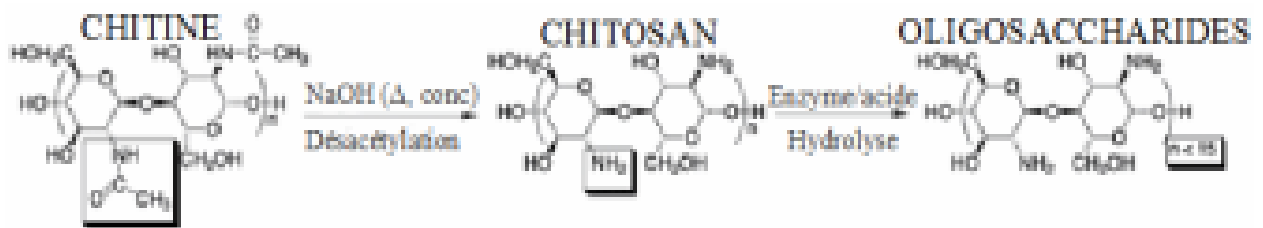


Figure 45. Schéma des réactions chimiques de désacétylation et dépolymérisation (LE ROUX, 2012).

Annexe 06 : spectres RMN¹H du chitosane extrait

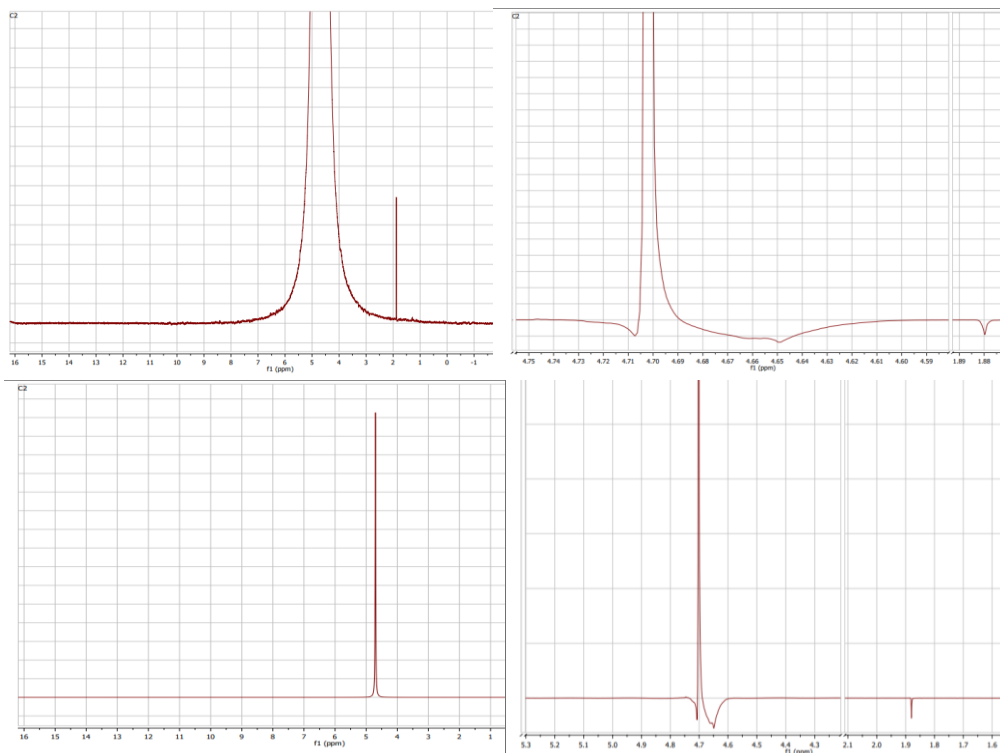


Figure 46. Spectres de RMN¹H du chitosane extrait

Résumé :

Cette étude porte sur l'extraction du chitosane à partir des coproduits de crevettes *Parapenæus longirostris*, dans le but d'une application dans le traitement des eaux contaminées par *Legionella pneumophila*. Une caractérisation biochimique de la matière première a été entreprise, suivie de l'extraction et du contrôle de la qualité du produit fini. Ce dernier est parfaitement soluble dans une solution d'acide acétique à 1%, son degré de désacétylation est de 98. % et son poids moléculaire est de l'ordre de 223 kDa. Le chitosane est donc de bonne qualité et se prête bien pour l'épuration des eaux contaminées, d'autant plus qu'il possède une activité antagoniste vis à vis de ce germe. Ce biopolymère couplé à la photolyse est utilisé dans le procédé de traitement d'une eau contaminée par *Legionella pneumophila*, puis comparée à trois autres méthodes : la photocatalyse, la photolyse et l'évapoconcentration. Les traitements par évapoconcentration des eaux contaminées par *L.pneumophila* ont donné d'excellents résultats avec des taux d'abattement de l'ordre de 100%. C'est l'équivalent d'une stérilisation. De même, La décontamination de l'eau par photolyse (S.O.D.I.S), Chitosane et poudre de crevettes brute ont permis une élimination des légionnelles de l'ordre de 99,9%. A la lumière des résultats obtenus, la valorisation biotechnologique des co-produits de crevettes ainsi que l'utilisation de l'énergie solaire méritent une attention particulière et notamment dans le domaine de l'épuration des eaux.

Mots clés : coproduits de crevettes, *Parapenæus longirostris*, caractérisation, chitosane, activité antagoniste, *Legionella pneumophila*, photolyse, photocatalyse, évapoconcentration.

Abstract

This study focuses on the extraction of chitosan from *Parapenæus longirostris* shrimp co-products, for an application in the treatment of water contaminated with *Legionella pneumophila*. Biochemical characterization of the raw material was undertaken, followed by extraction and quality control of the finished product. It is perfectly soluble in a 1% acetic acid solution; its degree of deacetylation is 98% and its molecular weight is of the order of 223 kDa. Chitosan is therefore of good quality and lends itself well to the purification of contaminated water, especially since it has antagonistic activity against this germ. This biopolymer coupled with photolysis is used in the process of treating water contaminated by *Legionella pneumophila*, then compared to three other methods: photocatalysis, photolysis and evapoconcentration. Treatments by evapoconcentration of water contaminated with *L. pneumophila* have given excellent results with abatement rates of around 100%. This is the equivalent of sterilization. Likewise, water decontamination by photolysis (S.O.D.I.S), chitosan and raw shrimp powder allowed elimination of *Legionella* in the order of 99.9%. In the light of the results obtained, the biotechnological development of shrimp by-products as well as the use of solar energy deserve special attention, particularly in the field of water purification.

Key words: shrimp co-products, *Parapenæus longirostris*, characterization, chitosane, antagonistic activity, *Legionella pneumophila*, photocatalysis, photolysis, evapoconcentration.

ملخص:

ركزت هذه الدراسة على استخراج الكيتوزان من قشرة الجمبري نوع *Parapenæus longirostris* بهدف إضافة قيمة إلى المنتجات الثانوية للقشريات بهدف تصفية المياه من بكتيريا *Legionella pneumophila* تم إجراء توصيف بيوكيميائي للقشرة، متبوعاً باستخراج جزيئة الكيتوزان وتحديد نوعيتها. هذه الأخيرة قابلة للذوبان تماماً في محلول حمض الأسيتيك 1%، درجة نزع الأسيتيل قدرت ب 98.8% ووزنها الجزيئي

223kDa. لذلك فإن الكيتوزان ذو نوعية جيدة ومناسب لتنقية المياه من بكتيريا *Legionella pneumophila* خاصة وأن لهذه الجزيئة نشاطاً ضد هذه الجرثومة. استخدم هذا البوليمر الحيوي إلى جانب التحلل الضوئي في عملية معالجة المياه الملوثة بـ *Legionella pneumophila* كما تم مقارنة هذه الطريقة مع ثلاثة طرق أخرى: التحفيز الضوئي، التحليل الضوئي وتركيز التبخر. أعطت المعالجات عن طريق تركيز التبخر للمياه الملوثة بـ *L. pneumophila* نتائج ممتازة مع معدلات تخفيف تصل إلى حوالي 100%. هذا يعادل التعقيم. وبالمثل، فإن إزالة تلوث الماء عن طريق التحلل الضوئي (S.O.D.I.S) والكيتوزان ومسحوق الجمبري سمح بالتخلص من الليجيونيليا بنسبة 99.9%. في ضوء النتائج التي تم الحصول عليها، فإن التثمين التكنولوجي لمنتجات الجمبري الثانوية وكذلك استخدام الطاقة الشمسية يستحقان اهتماماً خاصاً، لا سيما في مجال تنقية المياه.

الكلمات المفتاحية: المنتجات الثانوية للجمبري *Parapenæus longirostris*، توصيف الكيتوزان، نشاط مضاد للجراثيم، *Legionella pneumophila*، التحفيز الضوئي، التحليل الضوئي، تركيز التبخر.