

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Université Abdelhamid Ibn  
Badis-Mostaganem  
Faculté des Sciences de la  
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس  
مستغانم  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA MER ET DE L'AQUACULTURE

N°...../SNV/20

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

**MESSAOUD TOUATIA**

Pour l'obtention du diplôme de

**Master**

**En Hydrobiologie Marine Et Continentale**

**Spécialité: EXPLOITATION ET PROTECTION DES RESSOURCES  
MARINES VIVANTES**

**THÈME**

Contribution à la purification de la chitine à partir des coproduits  
de la crevette rouge *Aristeus antennatus* (RISSO, 1816)

**Soutenue publiquement le 14 /06/ 2016 DEVANT LE JURY**

Président	Mr. BELBACHIR Nor-eddine	MAA U. Mostaganem
Encadreur	M. SOUALILI Dina Lila	MCA U. Mostaganem
Examineur	M <sup>lle</sup> . OULHIZ Aicha	MAB U. Mostaganem

*Promotion 2015-2016*

## ***Dédicace***

*A l'aide de Dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, J'ai pu réaliser ce travail  
que je dédie :*

*Aux personnes les plus chères au monde mes chers parents.*

*A ma très chère Maman;*

*La lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie, qui ma apporté son  
appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné  
confiance, courage et sécurité.*

*A mon très cher Papa;*

*Qui ma appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour son sacrifice ses  
conseils et ses encouragements. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour  
mon éducation et mon bien être. Ce travail est fruit de tes sacrifices qui tu as consentis pour  
mon éducation et ma formation.*

*C'est grâce à vous que je suis arrivée aujourd'hui à ce niveau d'étude. Je ne trouverai jamais  
les mots pour vous remercier autant pour toute la veille morale et physique sur moi.*

*Mon marie : Ibrahim.*

*Mes très chères sœurs et mes frères*

*Je dédié aussi ce travail à toute ma famille MESSAOUD.*

*A Mes ami(e) s : Touatia, Salima , Leila , Sabrina, Yassmine, Souhila.*

*Et à toute La promotion de 2ème année master EPRMV, LMD Promotion 2016.*

***Touatia***

## **Avant propos**

La présente étude a été réalisée au niveau de Laboratoire des Microorganismes Bénéfiques, des Aliments Fonctionnels et de la Santé (LMBAFS) de l'université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, sous la direction de Mme. Souallili

Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre promotrice Mme Souallili. D, Maître de conférences à l'Université de Mostaganem, qui nous a encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'ils nous ont accordé nos ont permet de réaliser ce travail.

Nos sincères remerciements à Mr Belbachir N, docteur à Université de Mostaganem d'avoir accepté de présider le jury.

Nous adressons également nos respectueux remerciements à M<sup>lle</sup>. Oulhiz A, Maître de conférences à l'Université de Mostaganem d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous exprimons également notre gratitude à tous les enseignants qui ont collaboré à notre formation depuis notre premier cycle d'étude jusqu'à la fin de notre cursus universitaire, et ceux qui ont contribué de près ou de loin à la concrétisation de ce travail.

## RESUME

Les crevettes par leurs Hautes valeurs nutritives et l'exceptionnelle qualité gastronomique de leurs chairs se trouvent parmi les fruits de mer les plus exploitées. La pêche de cette ressource ne cesse de se développer avec une production actuelle d'environ un million de tonnes par an. A cet effet, le présent travail, réalisé dans la région de Mostaganem, se propose de contribuer à l'étude de l'analyse des coproduits d'*Aristeus antennatus*, en déterminant la composition biochimique de la carapace et en isolant la chitine et aussi d'étudier les analyses microbiologiques de cette dernière.

Les résultats ont montré que la carapace d'*Aristeus antennatus* est composée respectivement de protéine (17 %), de cendres (20%), de lipides (3.3%), et de chitine (15,88%). Quant à la chitine, elle est composée de protéine (1,13%), de cendres (2%), et de lipides (0,3%).

Par ailleurs, on a pu déterminé le pouvoir antimicrobien de la chitine contre 2 souches pathogènes (Gram<sup>-</sup>, Gram<sup>+</sup>).

Concernant les propriétés biologiques de la chitine, nous avons évalué la cinétique de croissance de deux souches *Lactobacillus bulgaricus* et *Escherichia coli*, dans les deux milieux MRS et TGEA. On observe que la croissance bactérienne d'*E.coli* et de la bactérie lactique en ces milieux cultures diminue considérablement au contact de la chitine, par contre elles survivent dans les déchets de crevette.

L'ensemble de ces résultats montrent l'intérêt de l'utilisation de la chitine, celle-ci présente un pouvoir antimicrobien.

Les résultats que nous avons obtenus montrent que la carapace a des propriétés physico-chimiques, qui permettent de penser à son exploitation dans plusieurs domaines tels que : l'agriculture, alimentation, la médecine, la pharmacie, Emballage la cosmétologie, le textile et le traitement des eaux usées.

**Mots clefs :** *Aristeus antennatus*, chitine, carapace, pouvoir antimicrobien, composition physicochimique

## ABSTRACT

Shrimp by their High nutritional value and exceptional gastronomic quality of their meats are among the most exploited seafood. Fishing of this resource continues to grow with a current production of around one million tonnes per year. To this end, the present work, performed in the Mostaganem region is to contribute to the study of analysis of *Aristeus antennatus*, determining the biochemical composition of the shell and isolating chitin and also study the microbiological analysis of the latter.

The results showed that the *Aristeus antennatus* shell is composed of protein, respectively (17%), ash (20%), fat (3.3%), and chitin (15.88%). As for chitin, it is composed of protein (1.13%), ash (2%), and fat (0.3%). Furthermore, it has been determined the antimicrobial capacity of the chitin against two pathogenic strains (Gram Gram +). About the biological properties of chitin, we assessed the growth kinetics of two *Lactobacillus bulgaricus* strains and *Escherichia coli* in both MRS and TGEA environments. It is observed that the bacterial growth of *E. coli* and lactic acid bacteria in the culture media decreases dramatically contact chitin, by cons they survive in shrimp waste. All these results show the benefit of using chitin, the latter has an antimicrobial power.

The results we obtained show that the shell has -chimiques physical properties that suggest its operation in several areas such as agriculture, food, medicine, pharmaceuticals, packaging cosmetics, textiles and Wastewater.

**Keywords :** *Aristeus antennatus*, *chitine*, shell, antimicrobial, biochemical composition.

## Liste des tableaux et des figures

### Liste des tableaux

#### **CHAPITRE I : PARTIE I : Généralités Sur l'espace**

**Tableau 1:** les tailles minimales marchandes des principales espèces de crustacés (kherraz, 2006)..... pp 7.

#### **PARTIE I : Les coproduits de la crevette « La chitine »**

**Tableau 2:** Variabilité de la teneur la chitine chez quelques organismes.....pp 18.

#### **CHAPITRE III : Résultats et Discussion**

**Tableau 3 :** variabilité de la teneur en eau contenue dans la carapace des crevettes.....pp45.

**Tableau 4:** variabilité de la teneur en cendres contenue dans la carapace des crevettes.....pp46.

**Tableau 5:** variabilité de la teneur en lipides contenue dans la carapace des crevettes .....pp 27.

**Tableau 6:** variabilité de la teneur en protéines contenue dans la carapace des crevettes.....pp47.

**Tableau 7:** Comparaison entre la teneur de chitine et teneur de la poudre de carapace de crevette.....pp48.

### Liste des figures

#### **CHAPITRE I : PARTIE I : Généralités Sur l'espace**

**Figure 1 :** Répartition de la consommation moyenne de produits marins par habitant de 2003 à 2005.....pp 8.

**Figure 2 :** Aspect général d'Aristeus antennatus (Risso, 1816).....pp 9.

**Figure 3 :** Morphologie externe d'une crevette Peneide (bibliotheque IFRE MER).....pp 10.

**Figure 4 :** A) Le Péasma chez le mâle ; B) : L'Oviducte chez la femelle.....pp11.

**Figure 5 :** cycle biologique en milieu naturel..... pp13.

**Figure 6:** Répartition géographique d'Aristeus antennatus (RISSO, 1816)..... pp 13.

#### **PARTIE II : Les coproduits de la crevette « La chitine »**

**Figure 7 :** Représentation générale de la chitine comme copolymère de glucosamine et N-Acétyleglucosamine.....pp 18.

**Figure 8 :** Procédé industriel de fabrication de chitine et de ses dérivés (Rao et al, 2007).....pp 24.

## **Chapitre II : Matériels et méthodes**

**Figure 9 :** Photos du marché (poissonnerie) de Mostaganem ..... pp 26.

**Figure 10 :** (A) la crevette complète (B) les déchets de la crevette (carapaces et têtes) (C) La poudre obtenue après broyage .....pp 27.

**Figure 11:** Déminéralisation et Filtrage sous vide.....pp 28.

**Figure 12:** PH-mètre .....pp29.

**Figure 13 :** la teneur de cendre .....pp31.

**Figure 14:** appareil de minéralisation.....pp 33.

**Figure 15 :** Appareil de distillation .....pp34.

**Figure 16:** Principe de titrage (A avant, B après titrage).....pp34.

**Figure 17 :** Séparation des phases de chloroforme et de méthanol .....pp36.

**Figure 18 :** Une rote à vapeur.....pp36.

**Figure 19:** Extraction de lipide.....pp38.

**Figure 20 :** méthode de préparation de la dilution décimale .....pp39.

## **CHAPITRE III : Résultats et Discussion**

**Figure 21:** Répartition des parts de produits et coproduits de crevettes (En pourcentage de poids humide) ..... pp45.

**Figure 22:** les déchets de la crevette (carapaces et têtes).....pp48.

**Figure 24:** Observation microscopique de la coloration de Gram de la souche.....pp50.

**Figure 23:** Aspect de souche témoin sur la gélose MRS témoin.....pp50.

**Figure 25 :** Aspect de colonies de la souche MC9 Sur la gélose MRSM1.....pp51.

**Figure 26 :** Observation microscopique de coloration de Gram de MRSM1.....pp51.

**Figure 27 :** Résultats d’ensemencement des bactéries lactiques sur la gélose MRSM2.....pp52.

**Figure 28 :** résultats d’ensemencement de la souche d’E. coli sur la gélose TGEAM2.....pp53.

**Figure 29 :** aspect macroscopique et microscopique de la souche d’E. coli sur la gélose TGEA témoin  
TGEAM1.....pp54.

**Figure 30 :** Résultats d’ensemencement de la souche bactérienne MC9 dans le milieu MRSM2.....pp55.

**Figure 31 :** Résultats d’ensemencement de dilution MC9 et *E. coli* dans les milieux utilisés.....pp56.

**Figure 32:** Croissance à différentes températures.....pp57

## Table des matières

Dédicace

Remerciement

Résumé

Abstract

Liste des tableaux et des figures

Table des matières

<b>Introduction</b> .....	1
<b>CHAPITRE I : Partie I : Généralités sur l'espace</b>	
I.1. La généralités sur les crustacés.....	3
I.1.1. Les différentes espèces de crevette .....	4
I-1-2. Importance de la production des crevettes.....	5
I-1-3. Taille commerciales de crustacés.....	6
I-1-4. Contexte économique.....	7
I-1-4-1- Évolution du marché des produits marins, focus sur les crustacés.....	7
I-1-4-2. Les valeurs nutritives de crevette.....	8
I-1-5. Biologie de l'espèce.....	9
I-1-5-1. Morphologie externe.....	9
I-1-5-2- Reproduction .....	10
I-1-5-3. Cycle biologique de crevette.....	12
I-1-5-4. Distribution géographique de crevette <i>Aristeus antennatus</i> .....	13
<b>PARTIE I : Les coproduits de la crevette « La chitine »</b>	
I. 2. Généralité sur les coproduits .....	15
I.2.1. Définition .....	15
I.2.2. Les co-produits de crevette .....	15
I.2.3. Histoire de découverte de la chitine .....	16
I.2.4. La chitine .....	16
I.2.4.1. Source de la chitine .....	17
I.2.4.2. La structure chimique de chitine .....	18
I.2.5. Les propriétés physicochimiques .....	19
I.2.5.1. Degré de N-acétylation .....	19
I.2.5.2. La solubilité .....	19
I.2.5.3. Biocompatibilité.....	20
I.2.5.3. Biodégradabilité.....	20

---

	20
I.2.6. Extraction de la chitine.....	20
I.2.6.1. La déminéralisation.....	21
I.2.6.2. La déprotéinisation.....	21
I.2.6.3. Blanchiment .....	21
I.2.7. Les applications de la chitine.....	21
I.2.7.1. En agriculture .....	22
I.2.7.2. En traitement des eaux usées .....	22
I.2.7.3. Domaines biomédical et pharmaceutique.....	23
I.2.7.4. Bio textiles .....	23
I.2.7.5. Cosmétique .....	23
I.2.7.6. Emballage .....	23
I.2.8. Valorisation des protéines .....	24
I.2.8.1. La production de la chitine dans le monde .....	24
<b>CHAPITRE II : Matériels et méthodes</b>	<b>26</b>
II.1. Présentation de l'échantillon.....	26
II.2. Analyse des coproduits de la crevette (carapace).....	26
II.2.1. Extraction de la chitine de carapace d'A.antennatus.....	26
II.2.2. Prétraitement des crapaces .....	27
II.2.3. Extraction et détermination de la teneur en chitines.....	27
a) Déminéralisation .....	28
b) Déprotéinisation (Méthode sérère).....	28
c) décoloration .....	29
II.3. Les analyses physico-chimiques .....	29
II.3.1. L'évaluation du PH .....	29
II.3.2. Principe .....	29
II.3.3. Mode opératoire.....	29
II.3.4. La mesure.....	30
II.4. Caractérisation des poudres de carapaces de crevette.....	30
II.4.1. Teneur en humidité.....	31
II.4.2. Détermination de la teneur en cendre.....	32
II.5. Dossage de la teneur en protéine (méthode de kjelmhl).....	33
II.5.1. Mode opératoire.....	35
II.6. Analyse des lipides .....	35
II.6.1. Extraction des lipides par la méthode de Folch.....	39
II.2. Analyses microbiologiques.....	39
II.2.2. Préparation des milieux de culture.....	40
II.2.3. Préparation d'un milieu de culture pour une bactérie exigeante (gélose MRS.....	41
II.2.4. Préparation d'un milieu de culture pour une bactérie non exigeante (gélose TGEA).....	42
II.2.5. Préparation d'un milieu de culture à partir de la chitine.....	42

---

II.2.6.Préparation d'un milieu de culture MRS à partir de déchet de crevette.....	43
II.2.7.Préparation d'un milieu de culture TGEA à partir de déchet de crevett.....	43
II.3. Identification des souches bactériennes.....	44
II.3.1. Morphologie.....	
<b>CHAPITRE III : Résultats et Discussion</b>	<b>45</b>
III.1. Analyse des coproduits de la crevette.....	45
III.2.1 Analyse physicochimique de la chitine extraite de la carapace de crevette.....	45
III.2.2. Analyse de la teneur en eau.....	46
III.2.3. Analyse de la teneur en cendres.....	46
III.2.4. Analyse de la teneur en lipides.....	47
III.2.5. Analyse de la teneur en protéines.....	47
III.2.6. Analyse de la teneur en chitine.....	50
III.2. Préparation des milieux de culture.....	57
III.3. Identification des bactéries lactiques.....	58
Conclusion.....	
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Annexes</b>	

---

# **Introduction Générale**

## Introduction

---

### Introduction

Les Crustacés représentent environ 50 000 espèces. Ils constituent la majorité des animaux planctoniques de tous les océans et les mers du monde, mais ils sont également représentés sur le fond de la mer depuis les rivages jusqu'aux profondeurs abyssales. De plus, ils ont une grande importance économique car de nombreuses espèces sont directement consommées par l'homme. Ils représentent une source d'alimentation considérable. Comme la plupart des fruits de mer, la crevette possède une excellente valeur nutritive. La production des crevettes augmente chaque année ainsi que les échanges internationaux sur ce produit de la mer. Cependant, les coproduits de la crevettes (têtes et carapaces et queues) représentent 50% du poids frais des crustacés, l'utilisation de ces derniers est donc un enjeu important étant donné leur lente biodégradabilité naturelle.

Une grande partie de la production fait, alors, l'objet d'une transformation industrielle. Cette transformation génère des co-produits, dont le devenir pose des problèmes aux industriels. La majeure partie est rejetée, soit directement dans l'environnement, ce qui présente des risques pour la pollution et la santé publique.

Par ailleurs, les coproduits de la crevette (crustacés) constituent une source abondante de chitine. L'extraction de cette dernière et son utilisation dans les produits cosmétiques et /ou pharmaceutique, font de ce polysaccharide, un produit d'une grande valeur commerciale.

C'est dans ce contexte que notre travail s'oriente. On se propose dans ce mémoire d'analyser la composition biochimique de la carapace (co-produit) de la crevette *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) connue sous le nom de crevette rouge, pour contribuer à enrichir les connaissances sur cette dernière dans la région Ouest algérienne.

On se propose d'extraire la chitine de la carapace de la crevette et de l'utiliser comme milieu de culture antimicrobien. L'objectif de ce travail est donc, d'une part, d'offrir un maximum d'informations écologiques et biologiques sur la crevette rouge *A. antennatus*, d'autre part, de déterminer

## Introduction

---

les caractéristiques biochimiques et physicochimiques des déchets de la crevette (têtes et carapaces) et de contribuer à l'étude de la purification de la chitine issue des carapaces de la crevette *A. antennatus* et déterminer l'activité antimicrobiennes de la chitine contre un panel de germes pathogènes.

Ainsi, nous avons organisé notre mémoire comme suit :

- Le Chapitre I concerne la recherche bibliographique sur la crevette rouge *A. antennatus* ;
- Le chapitre II , traite du matériel et méthodes utilisés dans ce travail ;
- Le chapitre III, est représenté par les résultats et discussion ;
- Et enfin on termine ce mémoire en proposons une conclusion avec les perspectives à suivre.

# Etude bibliographique :

# **CHAPITRE I**

## **PARTIE I : Généralités Sur l'espace**

## I.1. La généralités sur les crustacés

Les Crustacés forment un sous-embranchement de l'embranchement des arthropodes, comprenant notamment les écrevisses, les langoustes, les crabes, les anatifes, les cloportes et toutes les autres formes à respiration branchiale, à téguments solides composant une carapace chitineuse. Ce sont tous des animaux au genre de vie extrêmement variable, organisés pour vivre dans l'eau, et l'immense majorité de ces êtres habitent la mer; un très petit nombre de formes seulement se sont adaptées à la vie.

Les Crustacés Ce sont des animaux de formes et de tailles différentes, recouverts d'une carapace et vivants :

- Dans la mer : Langouste, homard, crabes, araignée, crevettes pour les plus consommés.
- En eau douce : Ecrevisses.

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

Parmi les crustacés on retrouve la crevette rouge *Aristeus antennatus* (Risso,1816) vit sur des fonds de vase très peu sableuse à *Isidella elongata* (Esper, 1785) aux profonde ; Cette espèce par sa qualité et son abondance ainsi que par sa grande valeur économique se trouve très recherchée sur les côtes algériennes. Fait partie des décapodes marcheurs, famille qui rassemble aussi le crabe, le homard, la langouste et la langoustine. Elle se trouve dans toutes les mers du monde, et il en existe environ 2 000 espèces. Le corps d'une crevette comprend deux parties :

- le céphalothorax, communément nommé la « tête » : là se trouvent les dents, les organes sensitifs (yeux et antennes) et quatre paires de pattes marcheuses qui lui permettent de se déplacer sur les fonds sableux ; la première paire de ces pattes se termine par des pinces plus ou moins développées selon les espèces ;
- l'abdomen, que l'on appelle habituellement la « queue » : c'est la partie comestible ; il est articulé et muni de deux pattes nageuses. Le tout est recouvert d'une carapace dont la couleur varie selon les espèces. La crevette fait l'objet d'une pêche intense et industrielle. Elle est tout aussi intensément élevée en aquaculture ;

### I.1.1. Les différentes espèces de crevette

Les crevettes appartiennent à la super-classe des crustacés, ordre des décapodes. Les décapodes contiennent toutes les espèces comestibles de crustacés (crevettes, homards, langoustes, langoustines, crabes...) (Rafalimanana, 2003). Le terme de crevette/camaron rassemble différents groupes :

Les crevettes Caridea qui incluent les crevettes grises (*Crangon crangon*) et les crevettes nordiques (*Pandalus borealis*).

Les Palaemonidae qui sont soit d'eau de mer comme les crevettes roses (*Palaemon serratus*), soit d'eau douce comme les camarons d'eau douce (*Macrobrachium rosenbergii*).

Les crevettes pénéides se composent de trois super familles dont celle des Penaeoidea qui se caractérise par un rostre robuste, la présence de plusieurs branchies, et cinq paires de périopodes bien développées munies de pinces pour les trois premières. Pour la super famille des Penaeoidea (RAFINESQUE, 1815) plusieurs familles sont représentées par de nombreux genres, dont le genre *Aristeus* appartenant à la famille des Aristaeidae (Wood-Mason, 1891).

La description précédente conduit à la taxonomie suivant :

- **Embranchement** : Arthropodes ;
- **Sous Embranchement** : Antennates ;
- **Classe** : Crustacés ;
- **Sous Classe** : Malacostracés ;
- **Super Ordre** : Eucaridés ;
- **Ordre** : Décapodes (LATREILLE, 1802) ;
- **Sous Ordre** : Natantia (BURKENROAD, 1963) ;
- **Super Famille** : Penaeoidea (RAFINESQUE, 1815) ;
- **Famille** : Aristoeidaes (WOOD-MASON, 1891) ;
- **Genre** : *Aristeus* (DUVERNOY, 1841) ;
- **Espèce** : *Antennatus* (RISSO, 1816) ;

Il existe plus de 1500 espèces de crevettes répandues dans les mers tempérées et tropicales. Environ 300 espèces présentent un intérêt économique et environ 100 espèces sont retrouvées dans le secteur de la pêche.

### **I-1-2. Importance de la production des crevettes**

La production de l'aquaculture marine a atteint plus de 20 millions de tonnes dans le monde en 2012 (FAO) avec un taux de croissance moyen de 3,62% par an au long de la dernière décennie.

L'aquaculture d'espèces marines est une réalité en Algérie, même si la plupart des fermes aquacoles en bassins et en cages flottantes sont très récentes et se trouvent toujours en phase expérimentale.

L'aquaculture marine est une activité demandant de grands investissements et des productions importantes pour garantir la viabilité économique. Comme indiqué dans le rapport Piccolotti, les 1300 km de la côte algérienne comptent très peu de sites abrités, ce qui exige des équipements capables de résister à la force des vents, des vagues et des courants, comme les cages de 25 mètres de diamètre utilisées dans la ferme marine Hypone Aquacole, dans la Willaya de Boumerdès.

A l'échelle mondiale, l'élevage de la crevette est particulièrement important et dynamique. Il a connu une croissance de 400% entre 1975 et 1985 et 350% entre 1985 et 1993 (Chim et al., 2002). Le tonnage produit en 2004 était de 2 millions de tonnes annuelles ce qui représente 50% de la fourniture mondiale (Rosenberry, 2004).

Il importe de noter que les Crustacés planctoniques (Copépodes, Euphausiacés notamment) assurent, pour l'essentiel, le transfert de l'énergie captée par le phytoplancton vers les niveaux trophiques plus élevés où se situent les espèces d'intérêt commercial. Ils jouent donc un rôle de premier plan pour les activités halieutiques. De nombreuses espèces de Crustacés font l'objet d'une pêche très active ([crabes](#), [crevettes](#), [langoustes](#), [langoustines](#), [homards](#), [krill](#), [écrevisses](#)). L'[aquaculture intensive des crevettes](#) principalement, à la suite des travaux de Hudinaga (1942) a connu un très fort développement dans les régions tropicales au cours des dernières décennies du XX<sup>e</sup> siècle. En 2005, Les captures (pêche) et production (aquaculture) au niveau mondial, ont été de respectivement de  $6 \times 10^6$  tonnes et de  $4 \times 10^6$  tonnes soit, au total, environ 6,4 % de l'ensemble des ressources aquatiques.

Les filets utilisés sont désignés sous le terme de chaluts et la zone de pêche se situe essentiellement sur le plateau continental. A l'exception des chalutiers appartenant aux sociétés mixtes qui peuvent aller jusqu'à 50 jours en mer, les chalutiers font dans leur majorité des marées de moins de 24 heures (KADARI, 1984).

Les engins les plus utilisés sur littoral algérien sont les chaluts de fond de type espagnol (le Huelvano et le Minifalda), le chalut de fond de type français (le Charleston) et le chalut de fond de type italien (Magliouche), le chalut semi pélagique (04 faces ou le GOV), et chalut pélagique (Kadari, 1984).

### **I-1-3. Taille commerciales de crustacés**

En Alger, la pêche de la crevette se fait en respectant et appliquant du décret exécutif n°04-188 du 19 Joumada el Ouel 1425 correspondant au 7 juillet 2004 (M.P.R.H, 2004) fixant les modalités de capture, de transport et de commercialisation des produits de la pêche n'ayant pas atteint la taille minimale réglementaire .

Dans ce cadre sont prohibés la capture, le transport et la commercialisation des espèces n'ayant pas atteint la taille minimale marchande. Celle-ci est indispensable pour empêcher la capture des individus immatures, afin d'éviter la surexploitation des stocks et assurer la pérennité de la ressource. Le tableau1 montre les tailles minimales marchandes des principales espèces de crustacés.

**Tableau 1** : les tailles minimales marchandes des principales espèces de crustacés (kherraz, 2006)

Class e	Famille	Vernaculaire	Nom scientifique	Taille Minimale (Cm)
C	Aristeidae	Crevette rouge	<i>Aristeus antennatus</i>	4
			<i>Aristeomorpha foliacea</i>	
R U S T	Penaeidae	Crevette blanche	<i>Parapenaeus longirostris</i>	2
		Crevette japonaise	<i>Parapenaeus japonicus</i>	4
		Cramote	<i>Parapenaeus kerathurus</i>	10
A	Nephropidae	Homard	<i>Homarus gammarus</i>	20
C		Longoustine	<i>Nephrops norvegicus</i>	7
E	Palinuridae	Langouste rouge	<i>Palinurus vulgaris</i>	18
S	Squillidae	Squille	<i>Squilla mantis</i>	6

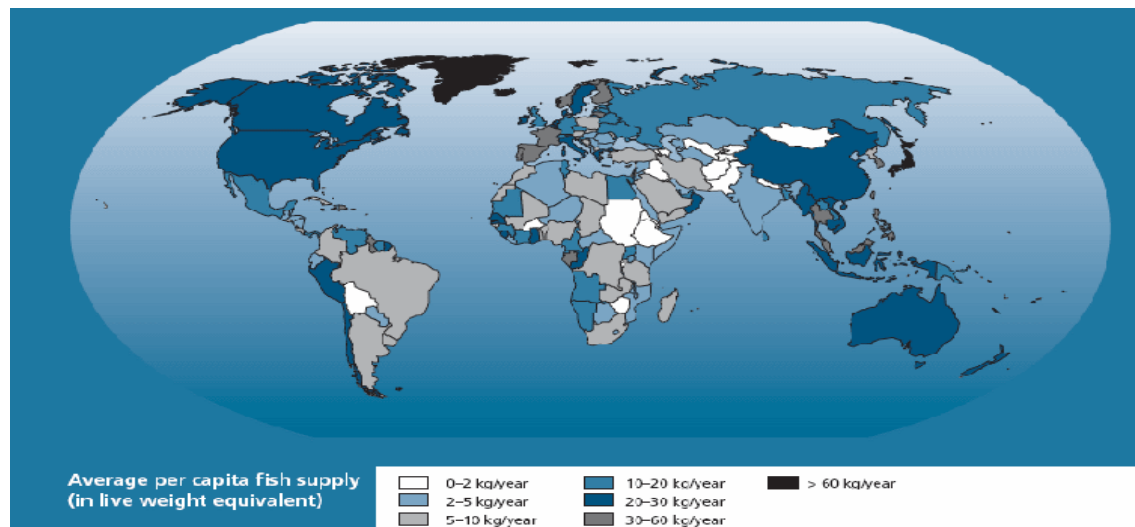
#### I-1-4- Contexte économique

##### I-1-4-1- Évolution du marché des produits marins, focus sur les crustacés

Les crustacés présentent un intérêt commercial, nutritionnel et économique de grande valeur que ce soit à l'échelle nationale ou mondiale. Le marché des produits aquatiques ne cesse d'augmenter à l'échelle internationale.

La forte hausse de la demande est principalement liée à l'augmentation de la consommation humaine. Elle représentait 0,7 Kg par habitant en 1970 tandis qu'elle a atteint 7,8 Kg par habitant en 2008, soit une augmentation de 6,6 % par an (FAO, 2010).

La consommation de produits marins est inégalement répartie sur la surface de la planète, comme le montre la figure I.1 (FAO, 2008).



**Figure 1** : Répartition de la consommation moyenne de produits marins par habitant de 2003 à 2005.

Avant la crise de 2009, l'augmentation de la consommation était particulièrement marquée pour les crustacés, principalement la crevette. La consommation mondiale est passée de 0,4 kg/hab en 1961 à 1,6 kg/hab en 2005. Aujourd'hui, 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.

#### **I-1-4-2. Les valeurs nutritives de crevette**

Les crevettes sont Omnivores à tendance alguivore, ce qui veut dire qu'elles mangent en majorité de petites pousses d'algues vertes (périphyton) ou de végétaux en décomposition (feuilles diverses, chênes, catappas, tilleuls, châtaigniers). Elles sont omnivores par le fait qu'opportunistes elle n'hésitent pas à se nourrir de tout autre déchet à sa disposition ( la nécromasse) : Poissons morts, autres invertébrés ou même de simples animalcules fixés sur les diverses roches qui constituent le fond de la rivière ou de nos bacs.

Les crevettes sont riches en protéines, contiennent peu d'acides gras saturés, et sont riches en oméga 3. On trouve aussi dans la chair de crevette de nombreuses vitamines,

des minéraux, du phosphore et du sélénium. L'astaxanthine est un pigment du type des caroténoïdes dont la valeur nutritive est nulle et qui est responsable de la coloration rose orangé présentée par certaines crevettes crues ou apparaissant chez d'autres après cuisson. C'est un antioxydant qui pourrait avoir un rôle bénéfique sur le système cardio vasculaire.

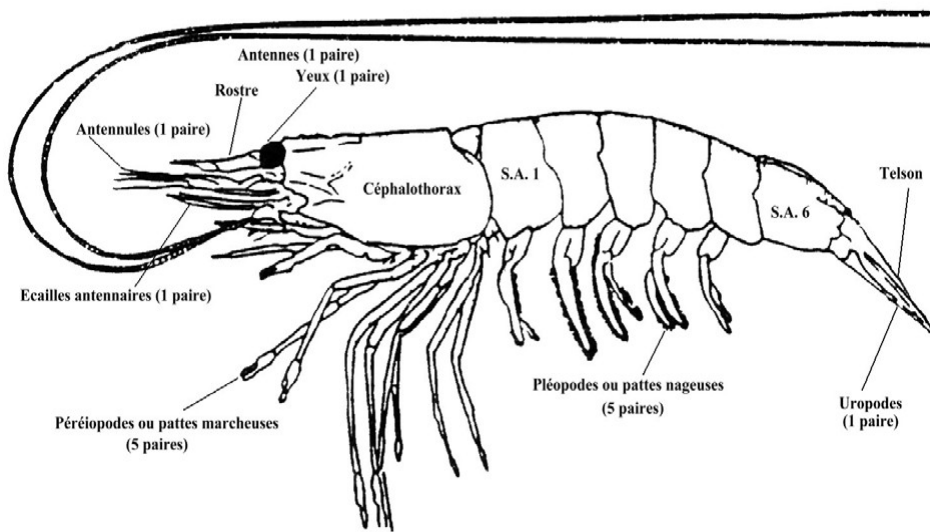
### **I-1-5. Biologie de l'espèce**

#### **I-1-5-1. Morphologie externe**

En Algérie, *Aristeus antennatus* (Risso, 1816), est l'unique espèce du genre. D'après nos observations, cette crevette se distingue par une coloration rouge pâle avec une tonalité bleuâtre sur la carapace (fig. 28). Elle présente une taille commune de 10 à 17 cm de longueur totale avec un maximum de 22 cm



**Figure 2 :** Aspect général d'*Aristeus antennatus* (Risso, 1816).



**Figure 3 :** Morphologie externe d'une crevette Peneide (bibliothèque IFRE MER)

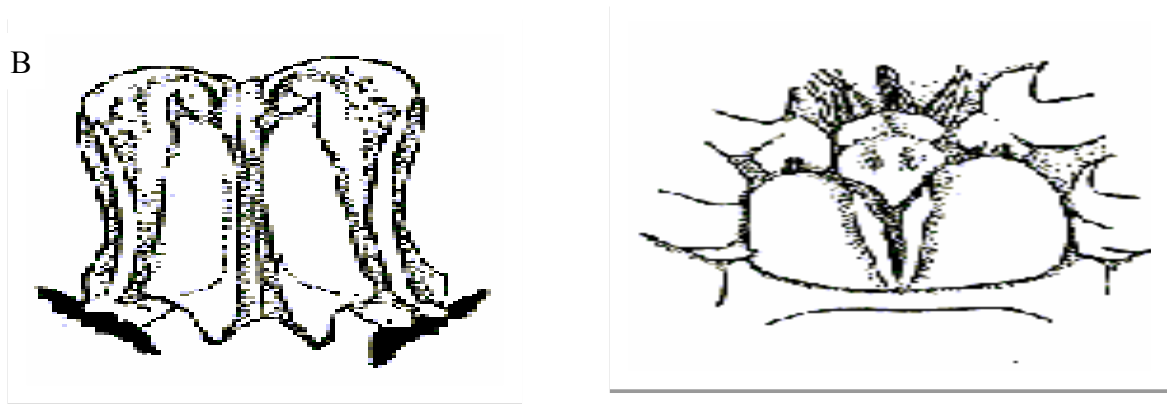
Un exosquelette chez la crevette ou squelette externe, par opposition à endosquelette, est une caractéristique anatomique externe qui supporte et protège un animal. Beaucoup d'invertébrés, comme les insectes, les crustacés et les mollusques, possèdent un exosquelette.

La partie abdominale de cet exosquelette est communément appelée « carapaces », qui compose la chitine.

### I-1-5-2-Reproduction

Les sexes sont séparés et les glandes génitales, situées au-dessus de l'intestin, forment de longs cordons recourbés latéralement en crosse et unis au niveau du cœur par une bandelette transversale d'où partent les canaux évacuateurs des produits génitaux : Les spermiductes chez les mâles et les oviductes chez les femelles (Fig.33a et 33b).

Concernant la reproduction, la période de ponte de cette crevette est estivale allant d'avril à septembre. Le pourcentage des femelles est toujours élevé (de l'ordre de 80%). La taille de première maturité sexuelle des femelles est de 23 millimètres de longueur céphalothoracique en moyenne et la fécondité relative est estimée à 8000 œufs / gramme de poids corporel (*in* Campillo, 1994).



**Figure 4:** A) Le Pétasma chez le mâle ; B) : L'Oviducte chez la femelle.

Le mâle va déposer (à l'aide de ses pattes) les spermatophores, sortes de petits sacs contenant les spermatozoïdes, dans l'orifice génital de la femelle. Le mâle s'approche de la femelle et fixe le spermatophore (poches contenant le sperme) à l'aide de l'appareil de couplage :

Le pétasma sur le réceptacle séminal : thelycium de la crevette femelle. Lors de la ponte, les oeufs sont fécondés au contact du sperme. Ces spermatophores ainsi introduits chez la femelle, et ont la particularité de pouvoir conserver les spermatozoïdes sur une période assez longue ; ce qui permet à un individu isolé de pouvoir féconder très tardivement ses œufs.

Au sein d'un petit groupe, cette espèce de crevettes se reproduit assez rapidement, en l'espace de quelques semaines, dès lors que les conditions de vie sont adéquates. La crevette femelle paraît beaucoup plus imposante que la crevette mâle et c'est encore plus flagrant lorsqu'elle porte des œufs sous l'abdomen.

La période de reproduction, dans le milieu naturel, s'étend sur environ 4 mois du printemps au début de l'été. Dans nos aquariums, pas de saison : les femelles peuvent donc produire des œufs tout au long de l'année, mais elles ont une période de "productivité" plus grande qui correspond à peu près à cette même période printanière.

La femelle a une durée de cycle de plus de 6 semaines. Lorsqu'elle est prête à être fécondée, elle libère une dose de phéromones qui attire tous les mâles alentours. Les mâles s'agglutinent autour d'elle dans le même but, mais un seul d'entre eux va être "autorisé" à s'accoupler, ventre contre ventre, pendant quelques instants. La femelle, ainsi fécondée, va

pouvoir développer ses œufs dans sa cavité abdominale pendant 5 semaines environ avant de relâcher les larves fraîchement écloses.

Les bébés crevettes se développent sous la crevette femelle dans un délai d'environ trois semaines, en fonction de la température de l'eau. La mère accompagne ses bébés pendant les premiers moments de leur vie en leur décollant les pattes destinées à la marche des pattes destinées à la nage.

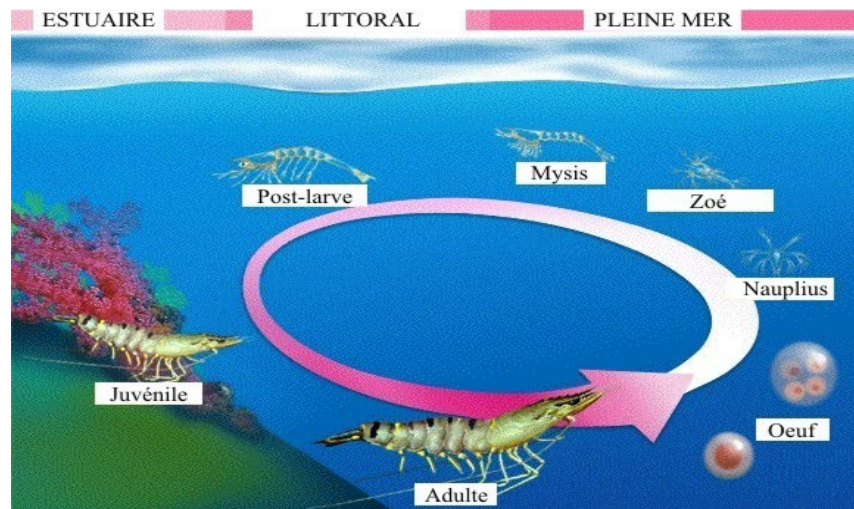
Une portée peut comprendre jusqu'à 50 bébés crevettes. Ces bébés crevettes ont besoin d'une nourriture raffinée (il existe chez les commerçants spécialisés de la nourriture spéciale pour jeunes crevettes).

Dès lors qu'ils ont fini leur croissance, une nourriture normale est auto *Aristeus antennatus* est une espèce démersale, qui vit sur des fonds de vase très peu sableuse à *Isidella elongata* et *Funiculina quadrangularis* au-dessus de fonds vaseux de 80 à 1440 m; plus commune entre 200 et 250 m. Elle effectue d'importants déplacements (migration nyctémérale) passant de 80-650 m la nuit à 260-820 m le jour.

En Algérie, *A. antennatus* évolue au niveau du bord supérieur du plateau continental et du talus à partir de 100 mètres de profondeur. Elle est fréquente et abondante entre 400 et 600 mètres de jour et 200 à 300 mètres de nuit (Grimes et *al.*, 2004).

### **I-1-5-3. Cycle biologique de crevette**

Les crevettes pénéides tropicales ont une croissance rapide. Leur cycle de vie est environ 18 à 24 mois et leur maturité sexuelle est atteinte à partir de 6 à 12 mois. La survie des larves est affectée par la température, la pluviosité et les tempêtes tandis que les jeunes crevettes sont sensibles à la salinité (Gillett, 2008). Cependant, les crevettes pénéides possèdent une grande adaptabilité à des conditions de milieu très diverses. Ils sont alors aptes à l'élevage et engendrent les espèces utilisées en aquaculture.



**Figure 5 :** cycle biologique en milieu naturel.

#### I-1-5-4. Distribution géographique de crevette *Aristeus antennatus*

L'espèce se rencontre dans l'Atlantique nord oriental, du Portugal aux îles du Cap Vert et dans toute la méditerranée (Udekem d'Acoz 1999). En France, l'espèce a été signalée en Atlantique du Golfe de Gascogne (d'Udekem d'Acoz 1999) et en Méditerranée de Catalogne, dans les Rechs du Cap et Lacaze Duthiers (Théodoridès 1965 ; Thiriote 1970), de la région de Nice (Risso 1816: *locus typicus*), de Menton (GBIF 2015), de la Côte d'Azur et de Corse (INPN 2015). Dans l'ultra-marin français, l'espèce a été signalée de La Réunion (Crosnier 1985 ; d'Udekem d'Acoz 1999 ; Poupin 2010). Elle serait également présente dans quelques localisations de l'indo-pacifique (GBIF 2015 ; Worms 2015).



**Figure 6 :** Répartition géographique d'*Aristeus antennatus* (RISSO, 1816).

La répartition géographique de cette espèce, comprend tout le bassin méditerranéen et les côtes atlantiques (fig.36). Elle fréquente les fonds de vases, de sables exploités essentiellement par les chalutiers (GRIMES *et al* ; 2004).

**PARTIE I : Les coproduits de la  
crevette « La chitine »**

## I. 2. Généralité sur les coproduits

### I.2.1. Définition

Les co-produits sont définis comme les parties non utilisées et récupérables lors des opérations traditionnelles de production. Ils sont issus de la transformation des poissons pour la consommation humaine et sont constitués des têtes, des viscères, de la chute de parage (filetage), de la peau, de l'écaille, des arêtes et des queues de poissons. Pour les crevettes, ils engendrent les têtes, la carapace et la queue. Les co-produits marins constituent 30 à 60% des produits entiers et leur valorisation a attiré depuis plusieurs années l'attention des industriels pour un souci de rentabilité économique et de développement durable. En effet, ces matières renferment de nombreuses molécules valorisables notamment des protéines (Ibrahim *et al.*, 1999 ; Heu *et al.*, 2003), lipides (Dumay *et al.*, 2006 ; Dumay, 2006), minéraux, vitamines (Heu *et al.*, 2003), ainsi que d'autres composés bioactifs (Kim *et al.*, 2008), bénéfiques à la santé humaine et animale.

La valorisation des déchets de crevettes sur des sols agricoles présente, cependant, des contraintes d'ordre technique et réglementaire. Le stockage constitue une préoccupation importante pour les industriels de la transformation et pour les agriculteurs. Les activités de transformation de la crevette s'étendent d'avril à octobre, alors que l'épandage se concentre dans de brèves périodes au printemps et à l'automne, ce qui implique de pouvoir stocker les résidus sur une longue durée, en particulier pour la période hivernale. L'évolution du fertilisant (résidus de crevettes séchés) pendant son entreposage, doit faire en sorte que le produit soit utilisable au printemps suivant. Le taux d'humidité des résidus ainsi que la durée et la température d'entreposage vont déterminer la conservation.

### I.2.2. Les co-produits de crevette

Les coproduits des crevettes contiennent des actifs biologiques tels que : la chitine, des pigments, des acides aminés et des acides gras. Ces molécules ont un large spectre d'applications dans les domaines médicaux, cosmétiques, dans l'industrie du papier, du textile, des biotechnologies ou de l'industrie agro-alimentaire.

A l'heure actuelle, on retrouve différentes utilisations des coproduits de crevettes ainsi que des technologies alternatives aux traitements chimiques permettant d'envisager l'utilisation de la totalité des coproduits de découpe des crevettes pour l'extraction de composés bioactifs. La première technologie alternative est l'extraction enzymatique de la partie protéique couplée

à des traitements chimiques " doux ". Elle permet d'obtenir des hydrolysats protéiques à usage nutritionnel ainsi que de la chitine partiellement purifiée.

La seconde technologie est une fermentation microbienne permettant d'envisager la récupération de pigments, de la fraction protéique et de la chitine. Après séparation, le jus de fermentation présente des propriétés antioxydantes ainsi que des caractéristiques nutritionnelles démontrant son intérêt pour l'incorporation de cette fraction pour la nutrition de poissons juvéniles et de crevettes Pénéidées.

### **I.2.3. Histoire de découverte de la chitine**

En 1811, le professeur Henri Braconnot spécialisé en histoire de la nature (Mekahlia,2007), directeur du jardin biologique à Nancy (France) a isolé une substance fibreuse d'un certain type de champignon qu'il a appelé fongina, une fraction résistante aux solutions alcalines concentrées. De plus, il a observé que cette substance n'est pas soluble dans les solutions aqueuses d'acides (Suyatama,2006).

Une décennie plus tard, en 1823, la même substance a été trouvée dans certains insectes (scarabées) et a été ensuite nommée chitine par Odier, provient du mot grec kitos qui signifie l'enveloppe. En 1859, le professeur Charles Rouget a soumis la chitine à un traitement alcalin et a observé les différentes solubilités de la chitine. La substance, résultat du traitement alcalin, a pu être dissoute dans les acides.

### **I.2.4. La chitine**

La chitine est l'un des principaux composants de l'exosquelette des insectes et autres arthropodes (crustacés, arachnides, etc.) Le terme chitine, d'origine grecque signifiant « *tunique* », par analogie avec la coquille des arthropodes et le vêtement. La chitine est un polysaccharide constitué d'unités de répétition D-glucosamine liées par des ponts  $\beta$  (1-4). est l'un des constituants de la cuticule protectrice des insectes, des araignées et des crustacés (Mathur et Narang, 1990). Associée au carbonate de calcium, elle devient rigide et forme alors l'exosquelette des crustacés et de tous les animaux à coquille. Chez les champignons, la chitine est un constituant essentiel de la paroi latérale qui entoure et protège les cellules fongiques de l'environnement. Ainsi, les résidus de certains champignons issus de l'industrie permettent la production de chitine (Yokoi et al., 1998; Nwe et Stevens, 2002).

Le polymère de chitine est biosynthétisé par une enzyme appelée chitine synthétase (CHS). L'espèce *Saccharomyces cerevisiae* possède plusieurs activités CHS permettant la production de chitine intracellulaire lors du bourgeonnement de ce champignon unicellulaire. La chitine est après la cellulose, le second polysaccharide le plus abondant dans la nature (Rinaudo, 2006). Selon Jeuniaux et al. (1993), la production totale de chitine par les crustacés dans les

écosystèmes marins à l'échelle de la planète serait de 2 milliards 300 millions de tonnes par an. Cette production serait imputable, pour près de 90%, aux organismes pélagiques, aux crustacés et au zooplancton. La contribution des autres organismes animaux producteurs de chitine apparaît négligeable par rapport à celle des crustacés.

#### **I.2.4.1. Source de la chitine**

La chitine est le deuxième composant très abondant dans la nature après la cellulose, elle n'existe que sous la forme de complexe avec des protéines et des minéraux. Ce bio polymère est présent principalement dans l'exosquelette des arthropodes (crustacés), l'endosquelette des céphalopodes (calamar) et les cuticules des insectes. La chitine se trouve, aussi, dans la paroi de la plupart des champignons et de certaines algues chlorophycées, levures et bactéries. En plus de son rôle dans le maintien de la rigidité de la cellule, elle contribue au contrôle de la pression osmotique .

Bien que les sources potentielles de chitine soient très nombreuses (tableau, elle est essentiellement produite aujourd'hui à partir des carapaces de crevettes. Pendant longtemps, ces déchets n'étaient pas récupérés et étaient simplement rejetés à la mer après décorticage.

La production de la chitine permet de valoriser les déchets de l'industrie agroalimentaire en évitant qu'ils soient rejetés à la mer. Ce qui engendre des problèmes de pollution car les carcasses des arthropodes (crustacés, céphalopodes...) sont très résistantes à la biodégradation. Les carapaces de crustacés contiennent environ 30-50% de carbonate de calcium, et 20-30% de la chitine par rapport au poids sec.

Selon Durand, Vergini, (2010), la chitine provient principalement de la carapace de la crevette, dont la composition en masse moyenne est suivante :

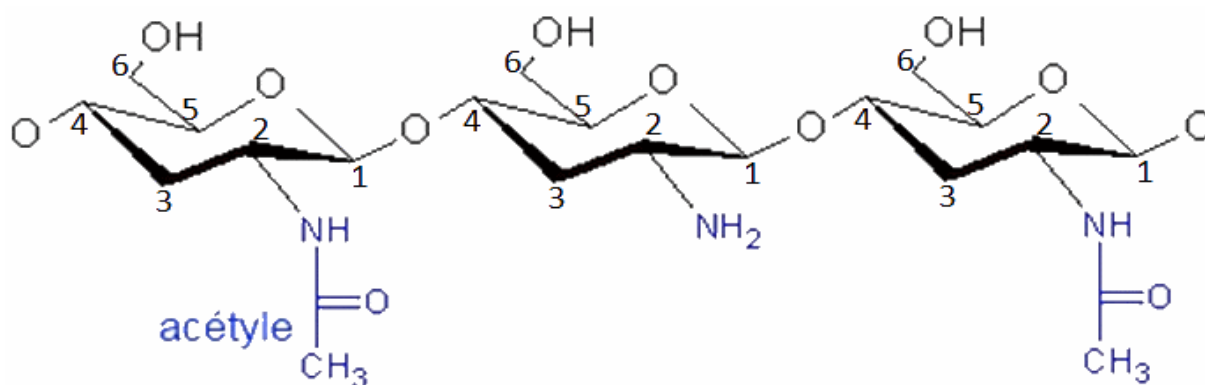
- 75% d'eau
- 12% de protéines
- 09% de sels minéraux
- 04% de chitine
- Traces de lipides et de pigments organiques.

**Tableau 2 :** Variabilité de la teneur la chitine chez quelques organismes

Source	Teneur en chitine (en % mat sec)	Source	Teneur en chitine
Arthropodes	2à72	Crabes <i>Chinoecetes opilio</i>	26,6
Mollusques	6à40	Crevettes <i>Pandalus borealis</i>	17,0
Ponophores	33	Crevettes <i>Cangron cangron</i>	33
Cnidaires (capsules œufs)	3à30	Crevettes <i>Penaeus monodon</i>	3à30
Annélides	0,2à 38	Ecrevisses <i>Procamborus</i>	0,2à38
Brachiopodes	4à29	Bouquet	4à29
Champignons	2,9à20,1	Plume de clamar	2,9à20,1
Algues/Lichen	Faible	Krill <i>Euphasia superba</i>	Faible

#### 1.2.4.2. La structure chimique de chitine

Il est composé d'un squelette carboné linéaire, des unités de glucosamine et de N-acétylglucosamine (Fig.7).



**Figure 7 :** Représentation générale de la chitine comme copolymère de glucosamine et N-Acétylglucosamine

La chitine se retrouve naturellement sous 3 formes polymorphes (α, P et γ) qui diffèrent selon l'arrangement des chaînes (Poirier, 2000; Rinando, 2006). La chitine-α, dont les chaînes sont

antiparallèles, est la plus stable et la plus abondante dans la nature. Sa structure est formée par le repliement des chaînes de chitine sur elles-mêmes. Contrairement à la chitine-p, la chitine-a est beaucoup plus cristalline (Lavall, 2007) et présente une seconde bande amide I près de  $1660\text{ cm}^{-1}$  en spectroscopie infrarouge.

### **I.2.5. Les propriétés physicochimiques**

#### **I.2.5.1. Degré de N-acétylation**

Le degré d'acétylation (DA) est un paramètre fondamental qui influence les propriétés des bios polymères chitineux. La détermination de DA est essentiel pour étudier la structure chimique, les propriétés des copolymères et la relation structure chimique- propriétés (Kasaai, 2008). Il est défini comme étant le nombre d'unités de glucopyranose de la chaîne de bio polymère ayant un groupement N-acétyle (Khor, 2001).

Les groupements amines au niveau de C-2 sont parfaitement acétylés. Généralement, 5 à 15% de désacétylation est provoqué par le traitement alcalin lors du processus d'extraction de la chitine (Morimoto et *al.*, 2002). On parlera de chitine lorsque le degré d'acétylation est supérieur à 70% (Kiefer, 1999 ; Morimoto et *al.*, 2002).

#### **I.2.5.2. La solubilité**

La chitine est insoluble dans les solvants usuellement utilisés pour la cellulose (solutions aqueuses d'hydroxyde de cuprammonium et de cupriéthylènediamine) (Poirier, 2000).

Cette faible affinité pour les solvants est due aux fortes liaisons hydrogènes intermoléculaires (Kurita, 2001). Généralement, la chitine ( $\alpha$ -chitine) est soluble dans quelques solvants comme N,N-diméthylacétamide (DMAc) qui contient 5-10% de LiCl et quelques solvants fluorés comme hexafluoroacétone et hexafluoro-2-propanol. Elle est également soluble dans l'acide chlorhydrique, l'acide sulfurique, l'acide acétique et l'acide phosphorique à 78-97% (Yang et *al.*, 2004). Cependant, la solubilité dépend de la source de chitine (Kurita, 2001).

Le poids moléculaire de la chitine est également un facteur important pour sa caractérisation (Kurita, 2001). La connaissance de tel paramètre est nécessaire pour les usages industriels (Montserrat, 2002). Il varie entre 1,03 et 2,5 MDa (Fernandez, 2004).

#### **I.2.5.3. Biocompatibilité**

La chitine n'a aucun caractère antigénique et de ce fait elle est parfaitement compatible avec les tissus vivants. Son caractère antithrombogène et hémostatique confirme sa possibilité d'emploi dans tous les domaines de la biologie (Bal et *al.*, 2006 ; Juraj et *al.*, 2007).

### **I.2.5.3. Biodégradabilité**

La chitine est biodégradable, elle est hydrolysée par une série d'enzymes telles les chitinases (Reetarani et *al.*, 2000), le lysozyme et les glucanases (Yang et *al.*, 2004). Les chitinases scindent la chitine en de nombreux points pour former principalement le chitobiose (disaccharide) et le chitotriose. Une autre enzyme la chitobiase hydrolyse le chitobiose et le chitotriose en monomères qui peuvent être rapidement biodégradés (Jerome et *al.*, 2004).

### **I.2.6. Extraction de la chitine**

La chitine est le deuxième bio-polymère le plus abondant dans la nature après la cellulose. La chitine n'a pas une structure chimique unique mais plusieurs ; elle englobe plusieurs polysaccharides composés d'unités de N-acétyl- $\beta$ -D-glucosamine de (50à100%) et d'unités D-glucosamine(de 0à50%). La chitine est présente dans les co-produits sous forme de complexe chitine –protéines-minéraux (principalement du carbonate de calcium). L'extraction de la chitine de la carapace nécessite au moins deux étapes distinctes lorsque l'on procède à la méthode chimique. elle est extraite en trois étapes :

#### **I.2.6.1. La déminéralisation**

La déminéralisation est généralement réalisée par un traitement acide pour éliminer les minéraux (carbonate de calcium et le chlorure de calcium), qui passent en solution sous forme de sels. Pour des raisons économiques, l'acide hydrochloridique (HCl) est privilégié (Le Roux 2012). Les concentrations en HCl rencontrées sont comprises entre 0,5 et 11N et le ratio entre 1 :10 et 1 :40(g/v). La déminéralisation dure entre 15 min à 48h, de la température ambiante à 50°C ( Tolimate et al.,2003 ; Al Sagheer et al.,2009). Il faut prendre garde à la production de mousse , causée par la dégagement de CO<sub>2</sub>.

Elle peut être limitée par l'ajout d'un agent anti-moussant (NO ET Hur ,1998), La déminéralisation est suivie par une étape de rinçage car le produit doit atteindre la neutralité avant l'étape suivante de déprotéinisation (Le Roux, 2012).

#### **I.2.6.2. La déprotéinisation**

A l'état naturel, la chitine se présente en association avec les protéines (chitinoprotéine) (chaucheryras-Durand et al,2010). Un traitement basique permet d'éliminer les protéines par solubilisation. Les réactifs employés pour cette étape sont de bases fortes comme l'hydroxyde de potassium (KOH). Le plus courant, pour des raisons d'économie et technique, est l'hydroxyde de sodium (NaOH). Les concentrations utilisées sont comprises entre 0,3 et 2,5 M, selon un ratio compris entre 1 :10 et 1 :40(g/v). La température est comprise entre 50 et 110°C et la durée peut varier de 1h à plus de 24 (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 (Le Roux 2012), pendant ce traitement une partie des colorants naturels sont extraits (Durand et al.,2008).

### **I.2.6.3. Blanchiment**

Pour les applications industrielles, la chitine obtenue à partir des ressources crustacées doit être décolorée après les traitements acides et alcalins (No et al., 1989). Le pigment dans les carapaces de crustacées forme un complexe avec la chitine. Il peut être enlevé par des réactifs oxydants tels que : l'éthanol, l'éther (Young et al., 2007), solution d'hypochlorite de sodium NaOCl (Suyatama,2006), peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Brine et Austin,1981 ; Moorjani et al.,1975). Durant le processus de blanchiment, le réactif utilisé ne doit pas avoir un effet sur les propriétés physico-chimiques de la chitine (Bensaha'A, 2010). Du et al. (2009) privilégient l'éthanol pour le blanchiment.

### **I.2.7. Les applications de la chitine**

Les activités biologiques incluant les propriétés antifongiques et antibactériennes, la stimulation des réactions de défense chez les plantes, les propriétés curatives, l'inhibition des tumeurs et les effets nutritionnels. Ses propriétés biologiques font de la chitine un biopolymère très intéressant pour des applications dans plusieurs domaines tels que

l'agriculture, l'agroalimentaire, la médecine, la cosmétologie, le textile et le traitement des eaux usées (Neetu et al., 2006 ; Theruvathil et al., 2007).

#### **I.2.7.1. En agriculture**

La chitine joue un rôle d'éliciteur (inducteur) des mécanismes de défense des plantes (Kurita, 1997 ; Leclerc, 1997). Elle leur confère une résistance contre les infections et les agressions parasitaires. La chitine et ses dérivés peuvent être également utilisés comme insecticides naturels (Jun Cai et al., 2006), comme agents de conservation des fruits et

légumes (fraises, poivrons, (El-Ghaout et *al.*, 1992) et comme engrais biologiques. En effet, Ali et ses collaborateurs (1997) ont observé, suite à l'ajout de matière organique chitineuse, que les feuilles et les tiges de soja accumulent plus d'azote.

### **I.2.7.2. En traitement des eaux usées**

A cause de leur grande capacité d'adsorption, la chitine et ses dérivés sont utilisés comme agents de chélation des cations et des ions métalliques à savoir  $Cd^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  (Hua et *al.*, 2004). Le pouvoir chélateur de ces substances (Muzzarelli R., Muzzarelli C., 2006; Laurance., Mansur., 1980) est expliqué par la présence de groupement acétylamine ( $-NHCOCH_3$ ) et le groupement amine ( $-NH_2$ ) sur les polymères chitine et chitosane, respectivement (Mrunal, 2004). Ils sont également utilisés pour traiter les effluents, de l'industrie textile, riches en colorants par adsorption et par coagulation - floculation (Kurita,1997).

### **I.2.7.3. Domaines biomédical et pharmaceutique**

Les nombreuses propriétés biologiques du chitine (biocompatibilité, bioactivité ....) en font un candidat de choix pour les applications pharmaceutiques, biomédicales et cliniques :agent antimicrobien , hémostatique pharmaceutiques, boimédicales et cliniques...Il est également utilisé comme système de libération contrôlé d'agents thérapeutiques par voie orale , transdermique , oculaire et nasale (Chaussard, 2002). Il présente en effet de bonnes propriétés muco-adhésives et une absence de toxicité qui le prédisposent à une utilisation en thérapie génique et pour la vaccination (Bacon et al., 2000).

Des études récentes tendent à montrer que la chitine exerce un effet bénéfique sur le renforcement du système immunitaire (Kumar, 2000). Il agirait comme un film intestinal, les fibres inhiberaient l'absorption des lipides et des sucres (prévenir les risques de diabète) (Ylitalo et al., 2002) ou activerait directement le déstockage des lipides (Helgason, 2009), et prévient le phénomène de vieillissement (Kuar,2000).

La chitine est biocompatible avec les tissus du corps humain : pansements, peau artificielle, pansements cornéens, fils de suture en chirurgies, réparation osseuse, chirurgie dentaire dans les implants ou la cicatrisation des gencives.

#### **I.2.7.4. Bio textiles**

La chitine est utilisée dans la fabrication des textiles bactériostatiques.

#### **I.2.7.5. Cosmétique**

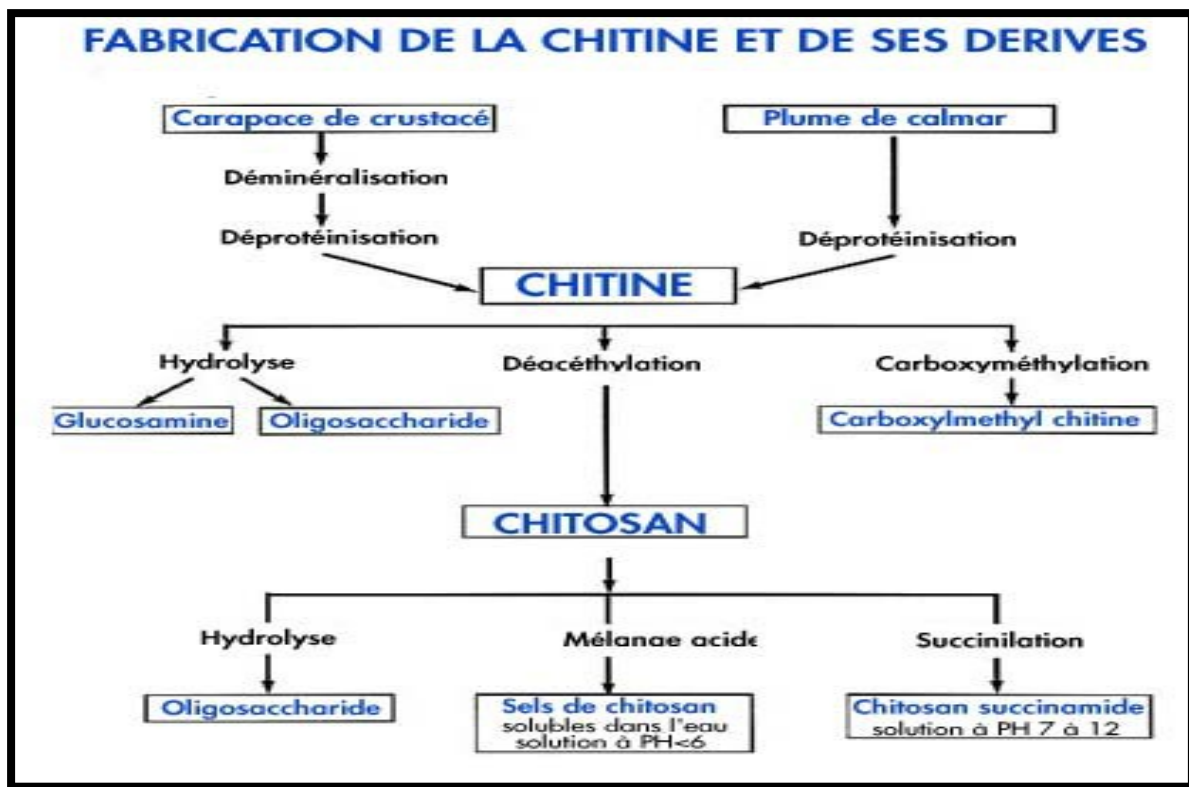
La chitine est utilisée dans la production de papier et de carton sanitaires. Les papiers ont une surface plus lisse et résiste mieux à l'humidité.

#### **I.2.7.6. Emballage**

La chitine est utilisée dans la production de papier de carton sanitaire. les papiers ont une surface plus lisse et résistent mieux à l'humidité.

#### **I.2.8.Valorisation des protéines**

Les protéines extraites des carapaces (chitine), peuvent être récupérées et valorisées ; si les conditions utilisées ne sont pas trop sévères. Une déprotéinisation à haute température dénature les protéines qui perdent leurs propriétés fonctionnelles. L'utilisation d'enzymes, comme l'Alcalase pour déprotéiner de façon douce permet d'extraire un maximum de 90% des protéines, qui peuvent être valorisées sous forme d'hydrolysats (Synowiecki et Al-khateeb, 2000, Gildgerb et Stenberg, 2001). Ces protéines ont un bon indice en acides aminés essentiels (46%) et un coefficient d'efficacité protéique de 2,74 (Synowiecki et Al-khateeb 2003). Elles peuvent être utilisées comme agent de remplissage et comme suppléments protéiques. L'hydrolysate peut être employé comme agent flavorisant (Aye et Stevens, 2004).



**Figure 8 :** Procédé industriel de fabrication de chitine et de ses dérivés (Rao et al., 2007)

### I.2.8.1. La production de la chitine dans le monde

La production de chitine se situe en majorité en Asie –Pacifique. Les coproduits de crustacés y sont disponibles et la législation liée au retraitement des effluents est peu contraignante. En 2004, on répertoriait 63 producteurs de chitine ayant une place importante sur le marché, dont la moitié en Asie (Montfort-Windels, 2004). Le Japon est le premier producteur (FAO, 2009). Pour la plupart des applications, la chitine n'est pas utilisée directement. Elle est convertie, principalement en chitosane et chitoooligosaccharides.

La reproduction de chitine était de l'ordre de 25000 tonnes en 2006, dont près de 8000 tonnes étaient utilisées pour sa conversion en chitosane (GAI, 2010). En 2000, 10000 tonnes de chitine étaient produites (Kurita, 2006), dont près de 6667 T pour la fabrication de glucosamine, 2667 T pour le chitosane et 1000 T pour les oligosaccharides. Le marché de la chitine n'a cessé de croître, et a atteint près de 25000 tonnes en 2006 (GIA, 2010). Par ailleurs, le Japon domine nettement le marché de la chitine. Il participe à 61% des ventes mondiales. Les perspectives annoncées à l'horizon 2015 maintiennent globalement ces écarts entre la région. La reproduction de chitine atteindrait près de 63000 tonnes (GIA, 2010). En France, la transformation de Calmars est quasi inexistante : les co-produits sont donc très peu

disponibles. De plus, le cout de production des chitines est trop élevé par rapport aux prix à l'import. Ainsi, la majorité de ces matériaux : la chitine et le chitosane sont surtout importés d'usines asiatique (indiennes et chinoises).

# **CHPITRE II :**

**Matériels**

**et**

**Méthodes**

## II.1. Présentation de l'échantillon

Dans notre étude, nous avons utilisé comme espèce la crevette rouge *Aristeus antennatus*, espèce très demandée dans les restaurants et les pêcheries algériennes et mostaganémoise. L'échantillon a été acheté du grand marché (poissonnerie) de la ville de Mostaganem, nommé « Marché couvert), qui se trouve au centre ville (Derb) (Fig.9). Ces crevettes sont généralement pêchées dans la zone de l'Ouest Algérien.



**Figure 9 :** Photos du marché (poissonnerie) de Mostaganem.

## II.2. Analyse des coproduits de la crevette (carapace)

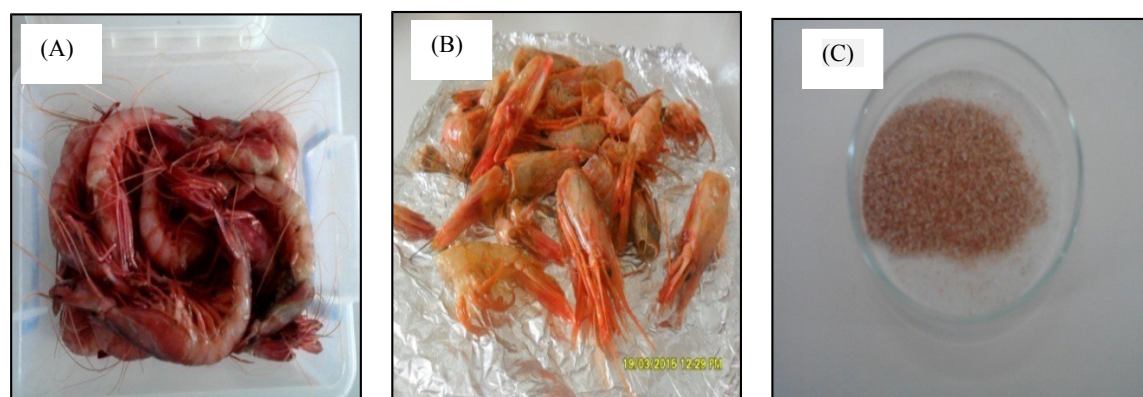
### II.2.1. Extraction de la chitine de carapace d'*A.antennatus*

Les coproduit de crevette utilisés lors de cette étude sont constitués principalement par les carapaces obtenus après décortication des crevettes achetées du marché de mostaganem. Une série de prétraitement ont été réalisé pour extraire la chitine.

### II.2.2. Prétraitement des crapaces

Avant leur utilisation, les déchets vdes carapaces des crevette sont d'abord (Youcefi, riaz, 2012) :

- Laves par l'eau du robinet plusieurs fois pour éliminer les résidus organiques (tissus)
- Débarrasser la carapace de la chaire, des antennes et des pattes ;
- Séchage dans l'étuve pendant 24heures est ensuite broyées de façon à obtenir des particules dans la taille est de l'ordre du millimètre (0.5,0.8mm) à l'aide d'un broyeur à café .Plus les carapaces sont finement broyées, plus la réaction ultérieures seront complètes ;
  - Ces farines sont ensuite conservées dans des flacons en verre hermétiquement fermés à l'abri de la lumière, en vue de procéder aux différentes manipulation (déminéralisation, la déprotinisation et la décoloration) ;



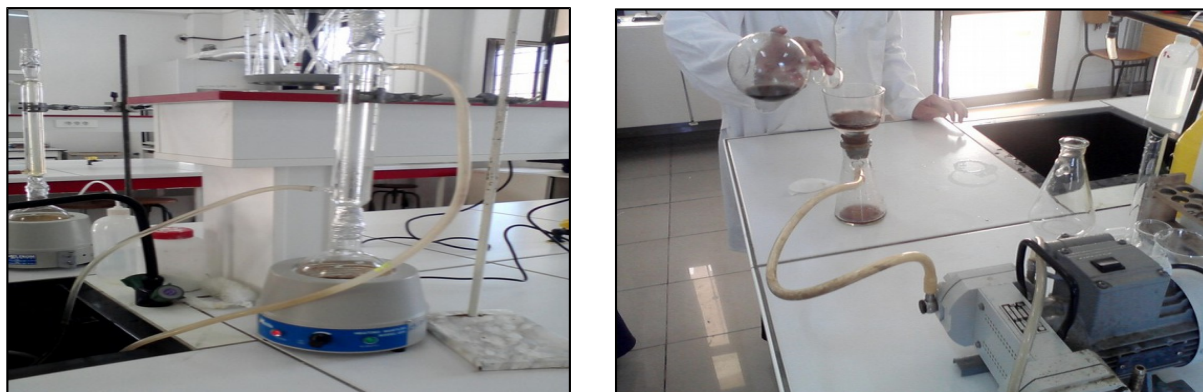
**Figure 10 :** (A) la crevette complète (B) les déchets de la crevette (carapaces et têtes)  
(C) La poudre obtenu après broyage.

### II.2.3. Extraction et détermination de la teneur en chitines :

De nombreuses méthodes ont été développées afin de préparer la chitine à partir des carapaces de crustacées. De manière générale, elles consistent à éliminer les minéraux (démminéralisation), les protéines (déprotinisation), le blanchiment.

#### a) Démminéralisation

Démminéralisation est généralement réalisée par un traitement acide sous agitation constante pour solubiliser le carbonate de calcium et le chlorure de calcium. Les acides les plus fréquemment utilisés sont l'acide chlorhydrique et l'acide formique. Les carapaces sèches en poudre sont traitées avec HCl (1N) dans un rapport 1/10 (solide/liquide), c'est-à-dire 1g de carapaces en poudre pour 10ml de solvant, sous agitation constante, à une température de 25°C pendant 1h dans un minéralisateur : chauffe ballon et réfrigérant afin d'éliminer les sels minéraux. Le produit ainsi obtenu est lavé par l'eau distillée plusieurs fois à la neutralité du pH, ensuite séché à l'étuve 105°C pendant 24h. Au long du processus, des mousses indésirables peuvent se former, ces mousses dues à la production de dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) selon la formule suivante :  $\text{CaCO}_3 + 2\text{HCl} \longrightarrow \text{CaCl}_2 + \text{CO}_2 (\uparrow) + \text{H}_2\text{O}$



**Figure 11 :** Déminéralisation et Filtrage sous vide.

### **b) Déprotéinisation (Méthode sérère)**

A l'état naturel, la chitine se présente en association avec les protéines (Chitinoprotéine). Les protéines sont éliminées par un traitement basique à l'hydroxyde de sodium (NaOH).

La déprotéinisation est fait par deux traitements alcalins :

**Ebullition :** cette procédure consiste à faire bouillir les copeaux de carapaces déminéralisé dans une solution d'hydroxyde de sodium NaOH (2,5N) dans un rapport 1/10 (solide/liquide). ce traitement fait dans un bain marie thermostaté à 70°C pendant 3 heures pour dissoudre les protéines, le mélange ensuite filtré et lavé plusieurs fois avec l'eau distillée pour éliminer les composants de NaOH restants jusqu'à l'obtention d'un milieu neutre. Après filtration la poudre est séchée l'étuve à une température 70°C pendant 24 heures, ainsi nous obtenons une chitine déprotéinée.

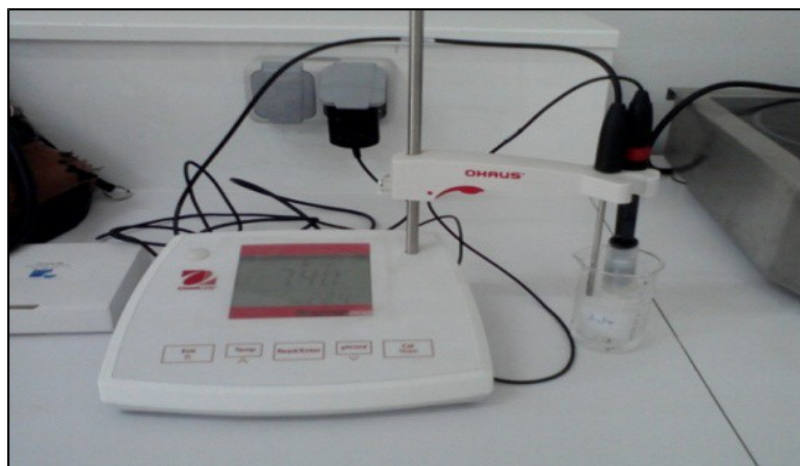
### **C) décoloration**

Le blanchiment de la chitine est souvent réalisé par un traitement avec des agents oxydants tels que : le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (2.5N) en masse dans un rapport 1/10 (solide/liquide, g/ml) à une température de 30 °C, pendant 3 heures. le mélange est ensuite filtré et lavé plusieurs fois avec de l'eau distillé pour éliminer les composants restants afin d'obtenir un milieu neutre. la chitine est ensuite séchée à l'étuve à une température de 70 °C, pendant 24 heures et le produit finale est de couleur légèrement.

## II.3. Les analyses physico-chimiques

### II.3.1. L'évaluation du PH

On peut tout d'abord de mesure par électrochimiel à l'aide d'une appareil PH-mètre.



**Figure 12 :** PH-mètre.

### II.3.2. Principe :

PH –mètre est utilise pour mesurer la différence de potentiel à une température déterminée de laboratoire entre l'électrode de mesure et cette référence, toutes étant introduites dans l'échantillon à examiner (Brumer ,2009).

### II.3.3. Mode opératoire :

Il existe de nombreuses façons de mesures le PH d'une solution aqueuse.

-Etalonnage du PH –mètre :

Après avoir le système de réglage de la température qui doit être amenée à la température de laboratoire

-On étalonne ensuite PH mètre par le bais de deux solution différente afin d'avoir les valeurs 4.9et9 (Fasquel et al ,2000).

### II.3.4. La mesure :

On prépare la pris d'essai, 1g dans 10ml d'eau distillé dans un bécher, puis l'immersion totale de l'électrode dans le bécher contenant l'échantillon.

On peut lire la valeur de PH après qu'il soit stable après chaque lecture, il faut rincer avec l'eau distillé et le papier absorbant.

## II.4. Caractérisation des poudres de carapaces de crevette

### II.4.1. Teneur en humidité

La teneur en eau, ou l'humidité d'un aliment est la quantité d'eau perdue par la substance lorsqu'on l'amène en équilibre vrai avec une pression de vapeur nulle (humidité relative égale à %)

La teneur en eau d'un échantillon d'aliment s'exprime en % de la masse d'eau rapportée soit à la masse de matière sèche contenue dans l'échantillon, soit à la masse totale de la matière humide d'échantillon (Fasquel et al ,2000).

Pour estimer la part d'eau dans un produit, 1 à 2 g d'échantillon sont prélevés et pesés dans une coupelle de poids connu. La coupelle est placée 24 h dans une étuve à 105 °C, puis pesée après 30 min de refroidissement. L'expérience est réalisée en triplicat (AOAC, 1980).

La teneur en eau est déterminée dans la matière première et dans les produits d'extraction chimique et enzymatique. Ses produits sont marqués par une forte hygroscopie.

#### ➤ Principes

Elle basé sur le séchage du produit à une température de  $103 \pm 2 \text{ } ^\circ\text{C}$  pendant 24heure jusqu'à l'obtention d'un point constant à la pression atmosphérique normale.

#### ➤ Mode opératoire

- On a réglé le thermostat de l'étuve à 105 °C
- On a pesé 2g de l'echatillon (creuset de porcelaine pesé avant ) dans une capsule à masse marquée ( $P_1$ ) puis on l'introduit dans l'étuve .
- Après 24 heure , on retire la capsule et on la place dans le dessiccateur durant une heure et on fait la pesé ( $P_3$ ).

#### ➤ Expression des résultats

L'humidité est déterminée par la formule suivante :

$$H \% = [(P_2 - P_3) / (P_2 - P_1)] \times 100$$

$P_1$  : masse en gramme de la capsule vide.

$P_2$  : masse en gramme de la capsule +la prise d'essai avant le séchage.

### 3.4.2. Détermination de la teneur en cendre

#### ➤ Principe et le mode opératoire

Le principe de la détermination de la teneur en minéraux repose sur leur résistance à la chaleur. Environ 1 g d'échantillon est pesé dans une feuille de papier en aluminium de poids connu. Elle est repliée et placée au moins 5 h à 600 °C. Après refroidissement, elle est de nouveau pesée. Le poids des cendres résiduelles est assimilé à la teneur en minéraux. Chaque mesure est répétée trois fois (Méthodes de référence AOAC, 1980).

#### ➤ Expression des résultats

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

Cendres% est la teneur en cendres

M<sub>0</sub> : le poids du récipient,

M<sub>1</sub> : sont les poids avant

M<sub>2</sub> : après incinération respectivement



**Figure 13:** la teneur de cendre

Pour s'affranchir de l'influence des conditions environnementales (T° et P°), les supports (coupelles, creusets, feuille d'aluminium, etc.) peuvent être placés 1 h en étuve à 105 °C, puis refroidis 30 min dans un dessiccateur avant d'être utilisés. Tous les résultats sont exprimés par rapport à la matière sèche.

## II.5. Dosage de la teneur en protéine (méthode de kjelmlh) :

### ➤ Principe

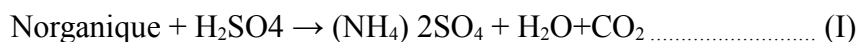
La méthode de Kjeldahl a été développée par Johan Kjeldahl, chimiste danois, en 1883. Son principe consiste à doser la teneur en azote et d'utiliser un coefficient de conversion pour estimer la teneur en protéines. Le dosage repose sur trois étapes.

La première étape du dosage est la digestion acide, appelée également « **minéralisation** »

### ➤ Etape1 : digestion ou minéralisation de l'échantillon

La prise d'essai est de  $4 \pm 1$  g (poids humide), pesée dans un tube à minéralisation. On y introduit alors 20 ml d'acide sulfurique ( $H_2SO_4$  à 96 %) et une pastille de  $K_2SO_4/CuSO_4$  (5/2, w/w) qui catalyse la réaction en augmentant le point d'ébullition (Raul, 2009).

Le mélange est porté lentement à 450 °C. La minéralisation convertit l'azote des composés amines et amides en ions ammonium  $NH_4^+$ , lesquels se lient aux ions sulfates  $SO_4^{2-}$ . Le reste de la matière est digéré sous forme de  $CO_2$  et  $H_2O$ . D'après l'équation(I), les espèces obtenues à l'issue de la réaction sont les suivantes:



Pendant l'étape de la digestion, l'azote protéique est transformé en azote ammoniacal par oxydation de la matière organique dans l'acide sulfurique concentré à haute température, en présence d'un catalyseur et d'un sel :

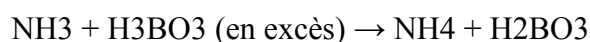
-L'acide sulfurique concentré a pour but d'oxyder la matière organique et transformer l'azote protéique en ammoniac  $NH_3$ . Il sert également à piéger l'ammoniac gazeux sous la forme de sulfate d'ammoniac, par action de la base avec l'acide :

-L'addition de catalyseur sous forme des sels  $K_2SO_4, Cu_2SO_4$  et se a pour but d'élever le point d'ébullition pour accélérer la réaction de minéralisation de la matière organique .

Un changement de couleur vers le vert pâle ou le bleu indique la fin de la réaction. L'étape dure au minimum 2 h. Elle est suivie d'une neutralisation. Après refroidissement, 20 ml d'eau distillée sont ajoutés pour stabiliser le milieu, puis suffisamment de NaOH 10 M pour atteindre un volume final de 80 ml. La forte alcalinité convertit l'ammonium en ammoniac.

### ➤ Etape 2 : Distillation de l'ammoniac

Le tube est placé dans une unité de distillation (Modèle K-314, Büchi Labortechnik AG, Suisse). La distillation transfère l'ammoniac gazeux vers une solution de 20 ml d'acide borique ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ , 2 %, w/w) en formant un complexe ammonium-borate



### ➤ Etape 3 : Titrage de l'azote

Ces la dernière étape est la titration de l'azote, sous sa forme complexée avec le borate, par l'acide hydrochlorhydrique 1 M. La solution à titrer contient un indicateur coloré (rouge de méthyle) qui vire au vert lorsque le pH est à l'équilibre. Le volume de HCl est alors identique à celui de  $\text{NH}_4^+$



## II.5.1. Mode opératoire

### ➤ La minéralisation

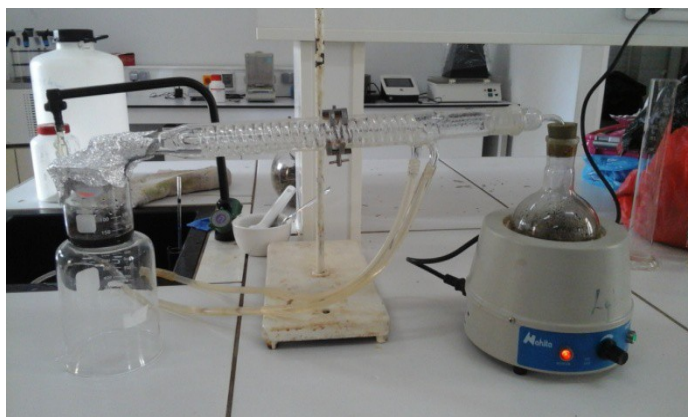
- On introduit dans le matras 0,5g de l'échantillon +1g de catalyseur (5g de sélénium +5g de sulfate de potassium).
- On ajoute quelques billes de verre ou pierre de ponce dans le matras afin de régulariser l'ébullition.
- On ajoute 10 ml d'acide sulfurique concentré.
- Maintenir le chauffage jusqu'à l'impidité de la solution puis on laisse les matras refroidir.



**Figure 14:** appareil de minéralisation

### ➤ La distillation

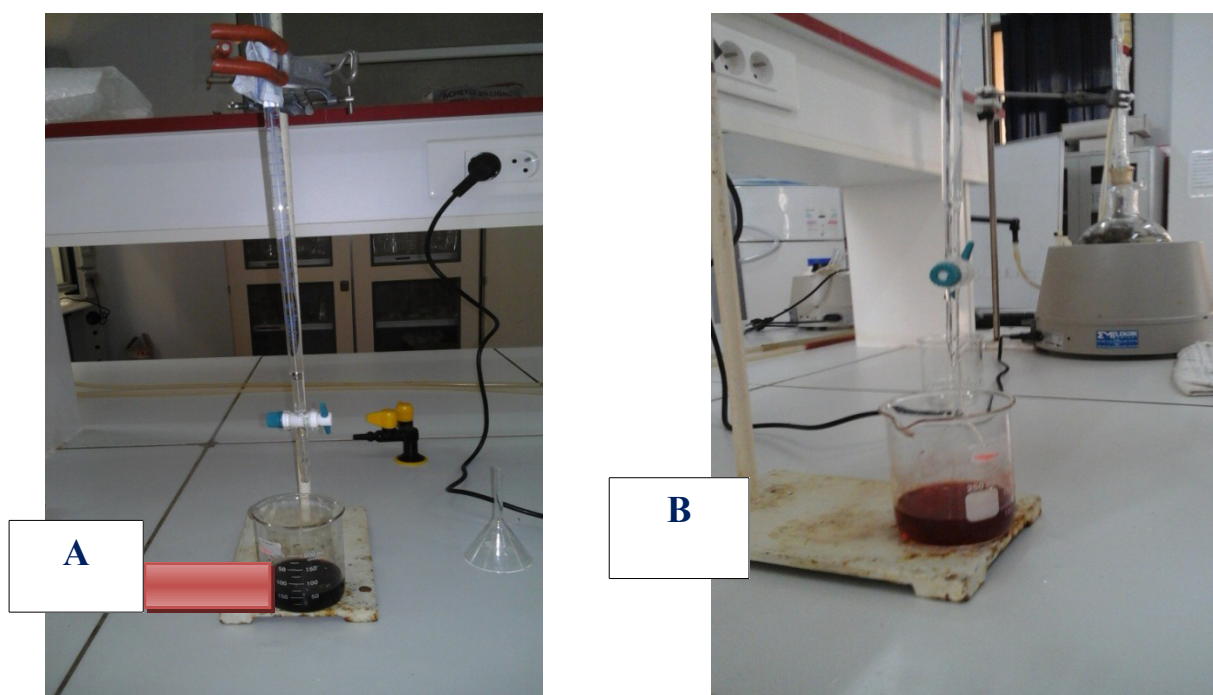
- On ajoute au liquide de minéralisation 80 ml d'eau distillée et 80 ml de solution de NaOH (33 ).
- L'acide sulfurique est neutralisé et l'ammoniac formé est entraîné par distillation. On émerge l'extrémité de l'appareil de distillat dans le bécher contenant 25ml d'acide borique (4 ) qui fixe l'ammoniac distillé.



**Figure 15 :** Appareil de distillation

➤ **Le titrage :**

On titre avec une solution d'acide sulfurique à 0,1N en présence d'un indicateur coloré (rouge de méthyle).



**Figure 16:** Principe de titrage (A avant, B après titrage).

✓ **Expression des résultats**

Le pourcentage ( ) de l'azote est déterminé selon la formule suivante :

$$N \% = (0,0014 \times V \times 100) M$$

V: volume en ml de la solution d'acide sulfurique versé à burette lors du titrage.

M : La masse en gramme de la prise d'essai. 0,0014g d'azote correspond à 1ml d'acide sulfurique à 0,1N. Enfin, la teneur en protéines dans l'échantillon est déduite de la formule suivante :

$$\% \text{protéines} = \%N \times K$$

$$\%P = \%N * 6.25$$

**K** :Facteur de convention de l'azote en protéine.

**K**= 6.25=100/16(origine animale).

## II.6. Analyse des lipides

### II.6.1. Extraction des lipides par la méthode de Folch

#### a) Principe :

L'extraction des lipides est basée sur leur solubilité dans les solvants organiques. Pour la méthode de Folch, le méthanol et le chloroforme sont utilisés (Folch *et al.*, 1957).

#### b) Manipulation

L'extraction des lipides selon la méthode de Folch est indiquée dans la Figure . La prise d'essai est constituée de matière fraîche pour les matières premières et de matière sèche sous forme de lyophilisat pour les hydrolysats. La prise d'essai est mélangée avec 6,66 volumes de méthanol et agité pendant 30 minutes. Puis, 13,3 volumes de chloroforme sont ajoutés.

Le mélange est de nouveau laissé sous agitation magnétique pendant 30 minutes. La préparation obtenue est filtrée sous vide sur verre fritté puis le filtrat est introduit dans une ampoule à décanter. La solution est ensuite additionnée de 0,2 volume de NaCl 0,9% par rapport au volume de solvant. Le contenu de l'ampoule est agité jusqu'à complète émulsion et laissé décanté une nuit à 4°C à l'abri de la lumière.

La phase inférieure organique est récupérée dans un ballon préalablement pesé. Puis, le solvant est évaporé au rotavapor. Le ballon est enfin repesé. Le dosage est effectué en triplicat pour chaque échantillon.



**Figure 17 :** Séparation des phases de chloroforme et de méthanol



**Figure 18 :** Une rote à vapeur.

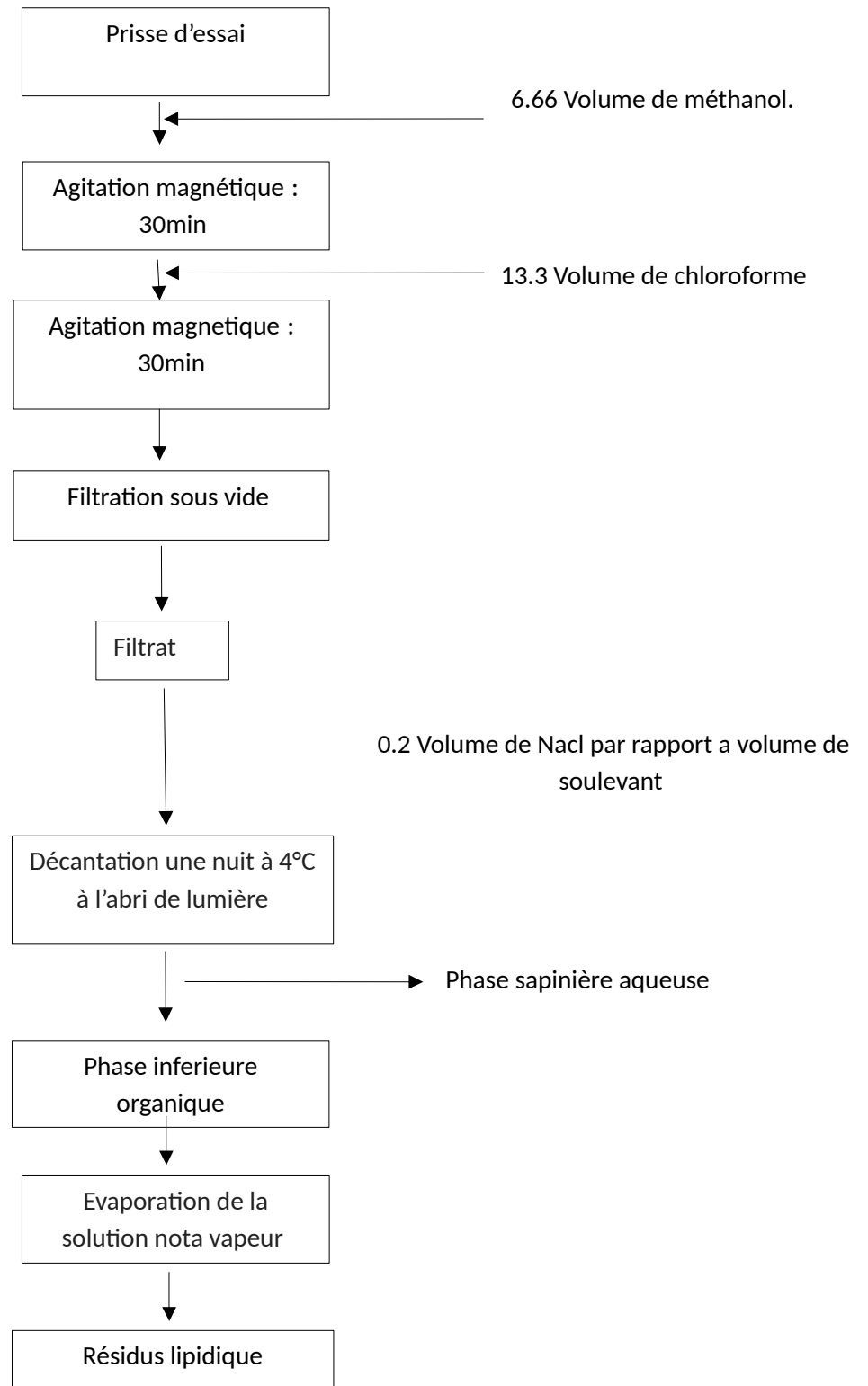
### c) Calcul

La différence de poids entre le ballon vide et le ballon après évaporation de solvant, qui contient les résidus lipidiques, donne la quantité de lipides contenue dans la prise d'essai. La teneur en lipides est alors obtenue suivant la formule :

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

- L% représente la teneur en matières grasses
- M2 représente le poids du ballon avec les lipides en g

- M1 est la masse du ballon vide en g
- et M0 est la masse de la prise d'essai en g.

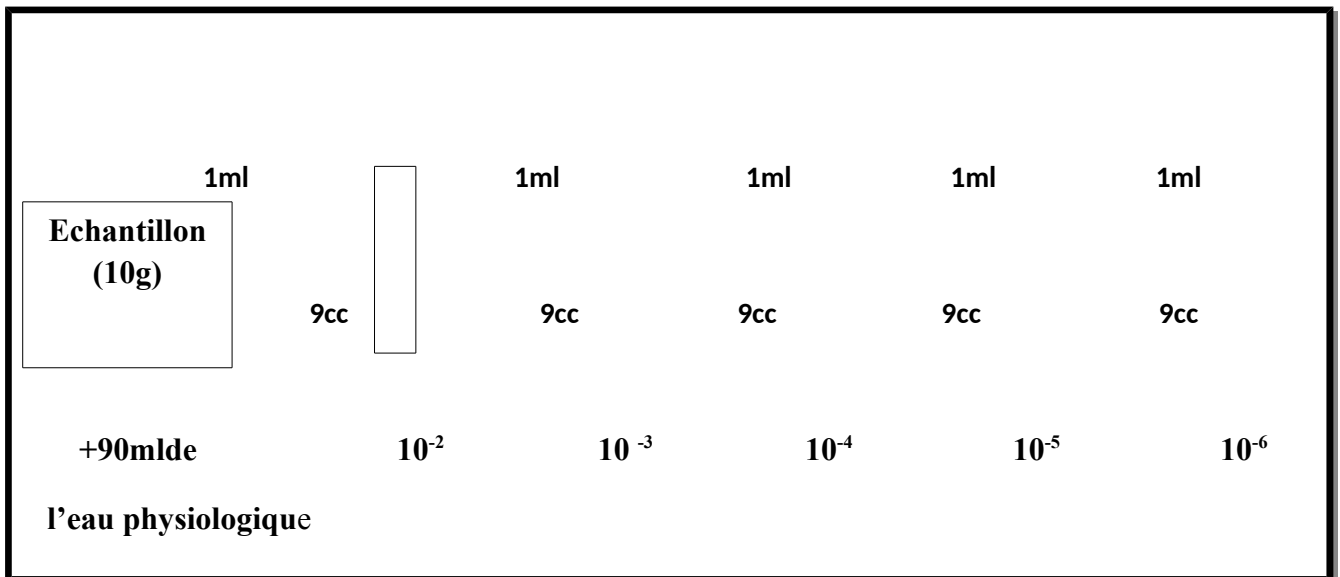


**Figure 19:** Extraction de lipide.

## II.2. Analyses microbiologiques

### II.2.1. Préparation de la solution mère et les dilutions décimales

- ✓ Introduire dans un 10g de l'échantillon (déchet de produit marin broyé) +9 ml de dilution de dilution ou 1g dans 10 ml (eau physiologique ou TSE...etc.), homogénéiser parfaitement.
- ✓ Cette préparation constitue la solution mère.
- ✓ Préparer les dilutions décimales à partir de la solution mère en introduisant 1ml de la solution mère dans 9 ml de l'eau physiologique.
- ✓ Recommencer l'opération jusqu'à l'obtention de la dilution souhaitée (jusqu'à la 6<sup>ème</sup> dilution).



**Figure 20 :** méthode de préparation de la dilution décimale

### II.2.2. Préparation des milieux de culture

#### a) Objectif

Avant d'entreprendre la préparation d'un milieu de culture, on prépare les milieux de culture avec l'aide des ingénieurs de laboratoire. A cet effet, nous avons travaillé sur deux axes :

- Préparation d'un milieu de culture, pour des bactéries exigeantes comme les bactéries lactiques, on a préparé un milieu universel (MRS) et un autre milieu de culture MRS modifié (MRSM, dont lequel on a introduit une chitine obtenue à partir de crevette).

- Préparation d'un milieu de culture pour des bactéries non exigeantes telles qu'**E. Coli**. Dans ce cas, on a préparé un milieu universel (TGEA) et un autre milieu modifié (TGEAM) dont lequel on a introduit la chitine obtenue à partir des déchets de crevette.

### II.2.3. Préparation d'un milieu de culture pour une bactérie exigeante (gélose MRS) :

#### a) Préparation du milieu MRS témoin

La préparation de ce milieu, a été faite selon les règles générales de la préparation de ce type de milieux de culture. La composition est comme suit :

*Pour 500 ml de milieu :*

-peptone.....	5g
-Extrait de viande .....	5g
-Extrait de levure .....	2,5g
-Glucos .....	10g
-Tween 80.....	0,54g
-Phosphate di potassique.....	1g
-Acétate de sodium .....	2,5g
-Citrate d'ammoniu .....	1g
-Sulfate de magnésium .....	0, 1g
-Sulfate de manganèse.....	0,025g
-Agar agar bactériologique.....	7, 5g
-Eau distillé .....	500ml

#### b) Préparation du milieu MRSM1 (MRS sans peptones +chitine)

Pour cette préparation, on remplace la masse de la peptone par 10g de notre chitine. Le reste des composants du milieu MRS sont restés stables.

**c) Préparation du milieu MRSM2 (MRS sans peptones, sans extrait de viande sans extrait de levure +25g chitine)**

Dans cette préparation, on élimine les trois composants et on les remplace par la chitine. Une fois les différents milieux sont préparés et mis en autoclaves : MRST, MRSM1, MRSM2, on les fait fondre pour une éventuelle utilisation. A cet effet, on suit les étapes suivantes :

- Mettre chaque gélose fondue dans une boîte de pétrie
- Laisser solidifier.
- Ensemencer en surface les différents milieux, la même colonie de bactérie lactique portant le code MC9 (collection du laboratoire LRSE –Université d’Es-Senia) et incubée à  $30^{\circ}\text{C}/24\text{h}$  à 5 jours en anaérobiose.

La lecture des résultats se fait à travers les points suivants :

- Vérifier la croissance de la colonie sur les différentes géloses.
- L’identification macroscopique et microscopique (coloration de Gram) est réalisée.
- On procède à la recherche de la catalase.

**II.2.4. Préparation d’un milieu de culture pour une bactérie non exigeante (gélose TGEA)**

**a) Préparation d’un milieu de culture TGEA de base :** La composition est comme suit

**Milieu TGEA :**

- Extrait de viande .....	3g
- Tryptone .....	5g
- Glucose.....	1g
- Agar.....	15g

**b) Préparation d’un milieu TGEAM1 (sans Tryptone + 5g Chitine )**

**c) Préparation d’un milieu TGEAM2 (sans Tryptone et sans extrait de viande + 8 g Chitine)**

Comme déjà cité, après la préparation des différents milieux : TGEAT, TGEAM1, TGEAM2, on les fait fondre pour une éventuelle utilisation. A cet effet, on suit les étapes suivantes :

- Mettre chaque gélose fondue dans une boîte de pétrie
- Laisser solidifier

- Ensemencer en surface les différents milieux, la même colonie d'*E. Coli* et incubée à  $30\text{ }^{\circ}\text{C}/24\text{ h}$  à 72 h en aérobiose

La lecture des résultats se fait à travers les points suivants :

- Vérifier la croissance de la colonie sur les différentes géloses
- Identification macroscopique et microscopique (coloration de Gram).

### II.2.5. Préparation d'un milieu de culture à partir de la chitine

Comportant uniquement la chitine /tween 80/Agar.

Après la préparation, on a ensemencé les deux souches (MC9) à la surface de la gélose. L'incubation se fait à  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  pendant 5 jours pour la bactérie lactique en anaérobiose. La lecture des résultats se fait à travers les points cités ci-dessus.

#### a) Enrichissement

- A partir de notre échantillon (la chitine), on réalise des dilutions décimales.
- 1 ml de la dilution  $10^{-5}$  et  $10^{-6}$  est mis dans un bouillon MRS, incubé à  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  pendant 24 à 48h. Le résultat positif est indiqué par une turbidité dans le bouillon.

#### b) Isolement

0,1 ml de bouillon MRS présentant un trouble est étalé par râteau sur gélose MRS en surface. L'incubation se fait en anaérobiose  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  pendant 24 à 5 jours.

### II.2.6. Préparation d'un milieu de culture MRS à partir de déchet de crevette

Comportant uniquement Déchet de crevette /Tween 80/Agar.

Après la préparation, on a ensemencé les deux souches (MC9) à la surface de la gélose. Incubation à  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  pendant 5 jours pour la bactérie lactique en anaérobiose. La lecture des résultats se fait à travers les points ci-dessus.

#### - Déchet de crevette comme source de bactéries lactiques

##### a) Enrichissement

- A partir de notre échantillon (déchet de crevette), on réalise des dilutions décimales.

- 1ml de la dilution  $10^{-5}$  et  $10^{-6}$  est mis dans un bouillon MRS, incubé à  $30^{\circ}\text{C}$  pendant 24 à 48 h .Le résultat positif est indiqué par une turbidité dans le bouillon
- b) Isolement**
- 0,1 ml de bouillon MRS présentant un trouble est étalé par râteau sur gélose MRS en surface .L'incubation se fait en anaérobiose  $30^{\circ}\text{C}$  pendant 24h à 5 jours .

### II.2.7.Préparation d'un milieu de culture TGEA à partir de déchet de crevette

On remplace la chitine par le déchet de crevette dans les deux milieux de culture TGEA modifié 1 et TGEA modifié 2. Après la préparation, on aensemencé la souche E.coli à la surface de la gélose. Incubation à  $30^{\circ}\text{C}$  pendant 24 h pour la bactérie lactique en anaérobiose. La lecture des résultats se fait à travers les points cités ci-dessus

#### a) Enrichissement

- A partir de notre échantillon (déchet de crevette), on réalise des dilutions décimales.
- 1 ml de la dilution  $10^{-5}$  et  $10^{-6}$  est mis dans un bouillon TGEA, incubé à  $30^{\circ}\text{C}$  pendant 24 à 48h . Le résultat positif est indiqué par une turbidité dans le bouillon.

#### b) Isolement

0,1 ml de bouillon TGEA présentant un trouble est étalé par râteau sur gélose TGEAM1 et TGEAM2 en surface. L'incubation se fait en aérobie  $30^{\circ}\text{C}$  pendant 24H à 5 jours.

## II.3. Identification des souches bactériennes

Des souches bactériennes isolées ont été identifiées par caractérisation physiologique et biochimique selon les critères préconisés par (Larpent-Gourgaudet al.(1997) ; Axelsson (2004) ; Hammes et Hertel(2006) ; Teuber et Geis (2006) et Bjorkroth et Holzapfel(2006)).

Cette identification à été faite en deux étapes. Nous avons tout d'abord, étudié la morphologie des souches isolées, leur production de catalase, croissance à différentes températures et leur faculté de produire du gaz à partir du glucose.....ect.

### II.3.1. Morphologie

#### ❖ Caractérisation macroscopique

Une observation macroscopique permet de décrire, l'aspect des colonies obtenues sur milieu gélosé .

#### ❖ **Caractérisation microscopique**

L'examen microscopique a été effectué, après coloration de Gram sur une culture jeune de 24 heures. Les formes caractéristiques des cellules microbiennes, leur arrangement, la présence ou non de spore et leur coloration de Gram ont été déterminées.

##### ✓ **Test de production de catalase (Devoyod et Muller, 1969)**

Une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes était déposée sur une colonie développée pendant 48heures sur le milieu gélosé. Le résultat est immédiat et se caractérise par un dégagement gazeux (O<sub>2</sub>) si la catalase est présente.

##### ✓ **Test de croissance à différentes températures (Larpent, 1996)**

Les souches bactériennes ont été ensemencées dans leurs milieux respectifs et tester leurs croissances à deux températures 15 °C et 45 °C . Les développements des souches étaient appréciés après une semaine d'incubation pour les cultures à 15 °C et après 24 et 48heures pour les cultures à 45 °C , par comparaison avec un tube de milieu non ensemencé incubé à la même température (examen de la turbidité).

# **CHAPITRE III**

**Résultats**

**et**

**Discussion**

### III.1. Analyse des coproduits de la crevette

#### III.2.1 Analyse physicochimique de la chitine extraite de la carapace de crevette

La matière première utilisée pour cette étude est l'exosquelette (carapace) de crevette royale *Aristeus antennatus*. La figure illustre les parts de produits obtenues par le décorticage des crevettes. Elles se répartissent entre 60,4 % de chair, 18,8 % de carapaces (en poids humide) et 20,8 % d'autres composants.

**Figure 21:** Répartition des parts de produits et coproduits de crevettes (En pourcentage de poids humide).

Dans cette partie, nous avons extrait la chitine à partir de la carapace de la crevette et nous avons procédé à l'analyse physicochimique de cette dernière.

#### III.2.2. Analyse de la teneur en eau

La teneur en eau mesurée pour l'échantillon (déchets de crevette) a été mesurée et les valeurs moyennes de l'analyse ont été comparées à autres valeurs (voir tableau ci-dessous):

**Tableau 3 :** variabilité de la teneur en eau contenue dans la carapace des crevettes.

Echantillons	Présent travail <i>A. antennatus</i> (Risso, 1816)	Narimane Taibi (2015) <i>A. antennatus</i> (Risso, 1816)	Karine Roux (2012) <i>Penaeus vannamei</i> (Boone, 1931)
Teneur en eau	42%	88%	20%

Pour obtenir la teneur en eau contenue dans les carapaces de la crevette *A. antennatus*, on a procédé au séchage à froid des carapaces, et la teneur en eau a été évaluée à 42 %, quelle que soit la granulométrie des fragments. Pour la suite de l'étude, les teneurs de chaque composé, seront exprimées en pourcentage de produit sec. Par ailleurs, la teneur en eau obtenue d'une valeur de 42 %, se situe entre les deux valeurs obtenues par Taibi (2015) et Roux (2012), dont la carapace contient 88 % d'eau pour l'espèce *A. antennatus*. Cependant, la teneur en eau obtenue par le Roux en 2012, de 20%, pour l'espèce *Penaeus vannamei* est nettement inférieure à la valeur que nous avons obtenu pour l'espèce *A. antennatus*.

### III.2.3. Analyse de la teneur en cendres

Dans le tableau ci dessous, sont mentionnés, les résultats obtenus pour le taux en cendres contenues dans notre échantillon et de ceux obtenus par d'autres auteurs. Nous constatons que la teneur en produits inorganiques de notre échantillon (20%), demeure plus élevé comparée aux autres résultats.

**Tableau 4 :** variabilité de la teneur en cendres contenue dans la carapace des crevettes

Echantillons	Présent travail <i>A. antennatus</i> (Risso,1816)	Narimane Taibi (2015) <i>A. antennatus</i> (Risso,1816)	Karine Le Roux (2012) <i>Penaeus vannamei</i> (Boone, 1931)
Teneur en cendres	20%	2%	19%

Cependant, la teneur en cendre de la crevette (*A. antennatus*) utilisé dans mon travail est supérieure à celle obtenue par Taibi (2015)..

### III.2.4. Analyse de la teneur en lipides

Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau ci-dessous. Ces derniers montrent que le taux de lipides contenu dans la carapace de la crevette *A. antennatus*, reste toujours proche de celui obtenu pour l'espèce *Penaeus vannamei* et supérieure à celui obtenu par Taibi (2015).

**Tableau 5:** variabilité de la teneur en lipides contenue dans la carapace des crevettes

Echantillons	Présent travail <i>A. antennatus</i> (Risso,1816)	Narimane Taibi (2015) <i>A. antennatus</i> (Risso,1816)	Karine le Roux (2012) <i>Penaeus vannamei</i> (Boone,1931)
Teneur en lipides	3.3%	1.5%	3.6%

### III.2.5. Analyse de la teneur en protéines

La proportion de protéines est estimée à 17% par la méthode Kjeldahl.

**Tableau 6:** variabilité de la teneur en protéines contenue dans la carapace des crevettes

Echantillons	Présent travail <i>A.antennatus</i> (Risso ,1816)	Narimane Taibi (2015) <i>A. antennatus</i> (Risso, (Risso,1816)	Karine le Roux (2012) <i>Penaeus vannamei</i> (Boone, 1931)
Teneur en protéine	17%	30 %	42,9 %

Le tableau ci-dessus montre que la poudre de déchet de la crevette *A.antennatus* présente un taux très bas en protéines comparativement à celui d'*A.antennatus* utilisé dans le travail de Taibi (2015). Quant à l'espèce *Penaeus vannamei*, celles-ci présentent des valeurs les plus élevées et qui se rapprochent de ceux de Taibi (2015).

### III.2.6. Analyse de la teneur en chitine

Dans le présent travail, on remarque que la teneur en chitine est plus élevée chez *A.antennatus* par rapport au résultat de la teneur en chitine obtenue pour la même espèce par Taibi (2015). et pour *Penaeus vannamei* Ta Roux



**Figure 22:** les déchets de la crevette (carapaces et têtes)

Dans cette partie, nous avons aussi procédé à la comparaison entre la teneur de chitine et teneur de la poudre de carapace de crevette, (voir tableau ci-dessous).

**Tableau 7:** Comparaison entre la teneur de chitine et teneur de la poudre de carapace de crevette

<b>La teneur</b>	<b>chitine</b>	<b>La poudre de carapace</b>
Teneur en protéine	1,13%	17%
Teneur en lipide	0,3%	3,3%
Teneur en cendre	2%	20%
Teneur en humidité	5%	42%

L'analyse du tableau ci-dessus, montre que la teneur des composés analysés de la chitine (protéine, lipide, cendre, humidité) est très faible par rapport la teneur de ceux de la poudre de carapace.

## Discussion

Dans le but visé par le présent travail, est d'extraire la chitine et de déterminer les caractéristiques physico-chimiques de la poudre de carapace de la crevette *A. antennatus*. Les résultats que nous avons obtenu, différent de ceux obtenus pour d'autres espèces de crevette. Cet état de fait, a été déjà signalé par d'autres auteurs Shahidi et *al.*, (2003) ; Waldeck et *al.*, (2006 ) et Kurita, (2006), qui ont souligné que les composants déterminés montrent une grande variabilité des proportions.

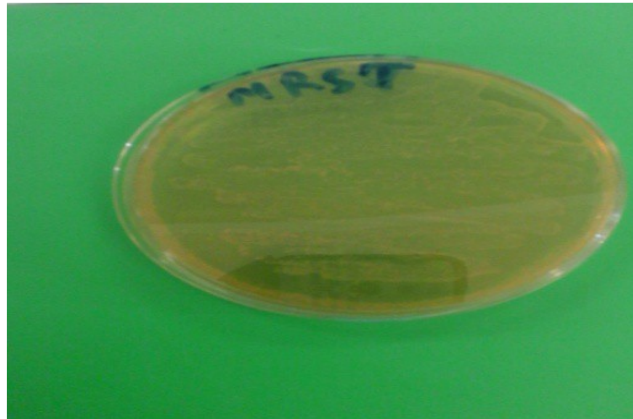
Dans cette étude, nous nous sommes limités juste à la détermination physico-chimique de la poudre de crevette et l'isolation de la chitine. Cependant ce travail mérite d'être approfondie en déterminant les caractéristiques de la chitine et de varier les méthodes de détermination physicochimiques de manière à permettre, la caractérisation des protéines et des lipides de la poudre de carapaces afin de les valoriser.

### III.2. Préparation des milieux de culture

Préparation d'un milieu de culture pour une bactérie exigeante (gélose MRS) (Figure 23).

✓ **Pour la gélose MRS témoin,**

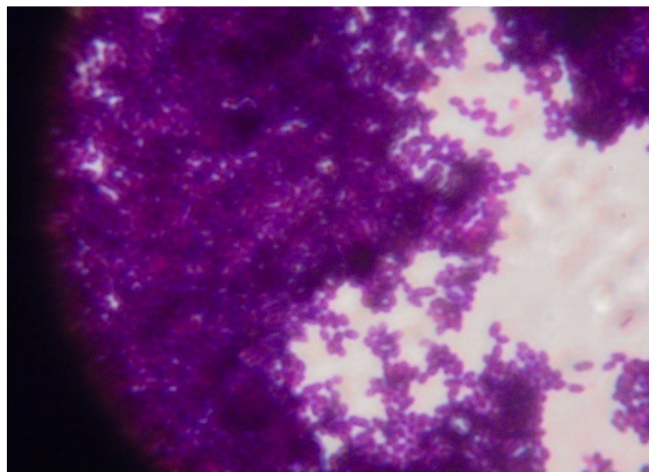
Les colonies issues de l'ensemencement de notre souche lactique MC9 sur le milieu MRS témoin, sont de couleur blanchâtre (Figure 24)., convexes, lisses, à bord régulier et de petites tailles d'un diamètre d'environ 2mm. Ces colonies ont poussé après de 2 jours d'incubation. Les cellules sont en forme de courts bâtonnets, de couleur violette (Gram positif).



**Figure 23:**

témoin sur la gélose MRS témoin.

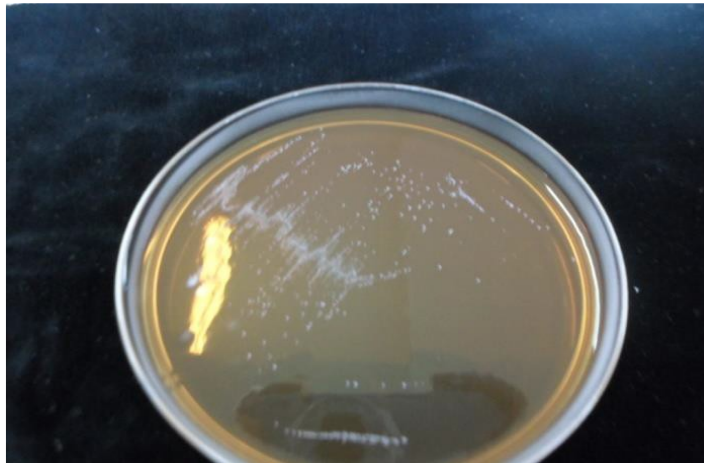
Aspect de souche



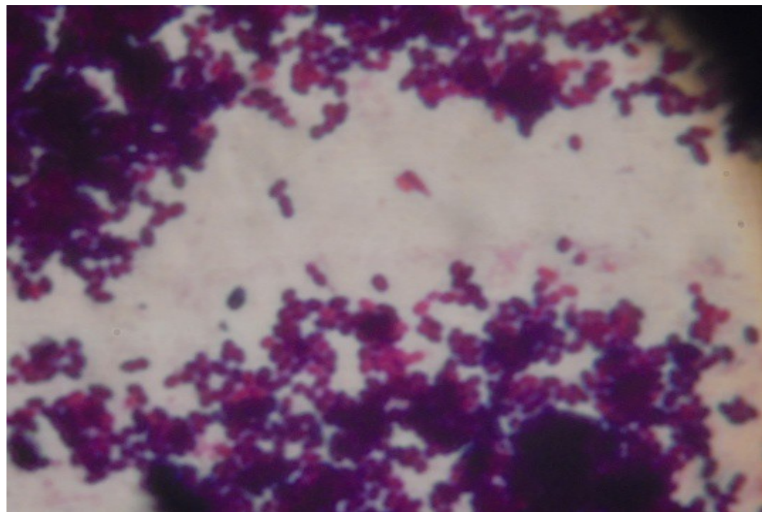
**Figure 24:** Observation microscopique de la coloration de Gram de la souche.

✓ **Préparation du milieu MRS1 (MRS sans peptones +la chitine)**

Cette gélose est caractérisée par une couleur brune, de structure homogène, ce qui indique la bonne solubilité de notre chitine dans le milieu (Figure 25). Les colonies de notre souche sont apparues après une incubation de 3 jours .De couleur blanchâtre et une taille plus petite par rapport au témoin (Figure 26).



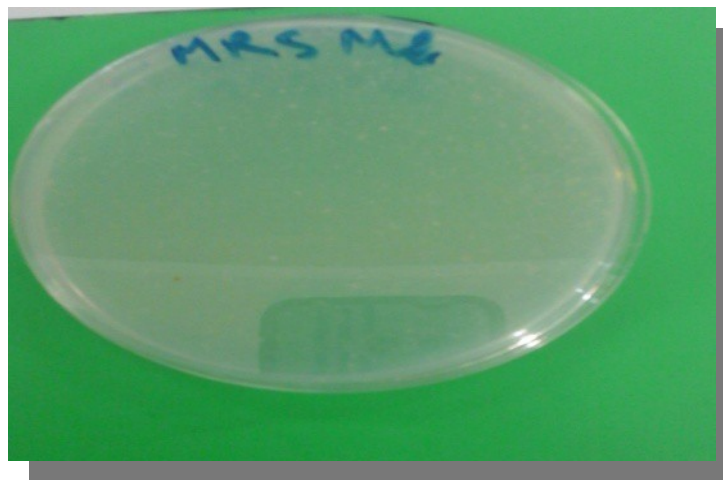
**Figure 25 :** Aspect de colonies de la souche MC9 Sur la gélose MRSM1



**Figure 26 :** Observation microscopique de coloration de Gram de MRSM1

✓ **Préparation du milieu MRSM2 (MRS sans peptones, sans extrait de viande, sans extrait de levure +chitine)**

Cette gélose ne possède pas, le même aspect que le milieu MRSM1 et MRS. Les colonies ont poussé difficilement après une incubation de 5 jours, ceci illustre parfaitement la réduction du nombre des colonies par rapport aux premiers milieux. Ce résultat peut être expliqué par le besoin des nutriments (Figure 27).



**Figure 27 :** Résultats d'ensemencement des bactéries lactiques sur la gélose MRSM2

Après chaque incubation des différents milieux (MRS, MRSM1, MRSM2), une coloration de Gram a été réalisée ainsi qu'une recherche de la catalase pour confirmer la croissance et la pureté de notre souche. Toutes les souches vérifiées sont Gram positif en forme de bâtonnet, catalase négative.

D'après les résultats obtenus, il ressort ce qui suit :

- **Pour la gélose MRS témoin**, la souche lactique s'est développée avec un temps d'incubation réduit. Il s'agit d'un milieu qui comporte tous les éléments essentiels à la croissance optimale de ce type de bactérie.
- **Préparation d'un milieu de culture pour une bactérie non exigeante (gélose TGEA)**
- **Milieu de culture TGEA témoin :** La croissance de la souche de référence E coli (ATCC 25922) sur ce milieu donne des colonies blanches à crème à bord régulier. La

vérification de la pureté de cette souche a porté sur la coloration de Gram et l'oxydase. Les cellules sont Gram négatif en forme de coccobacilles, oxydase négative.

➤ **Milieu TGEAM1** (sans tryptone+chitine) : Après la lecture nous avons remarqué une bonne adaptation de notre souche, ceci est exprimé par une croissance abondante après 24h d'incubation.

➤ **Milieu TGEAM2** (sans tryptone et sans extrait de viande +chitine) : pour ce type de milieu, *E.coli* a enregistré, (Figure 28) une croissance moins abondante presque nulle dans les 24h d'incubation.



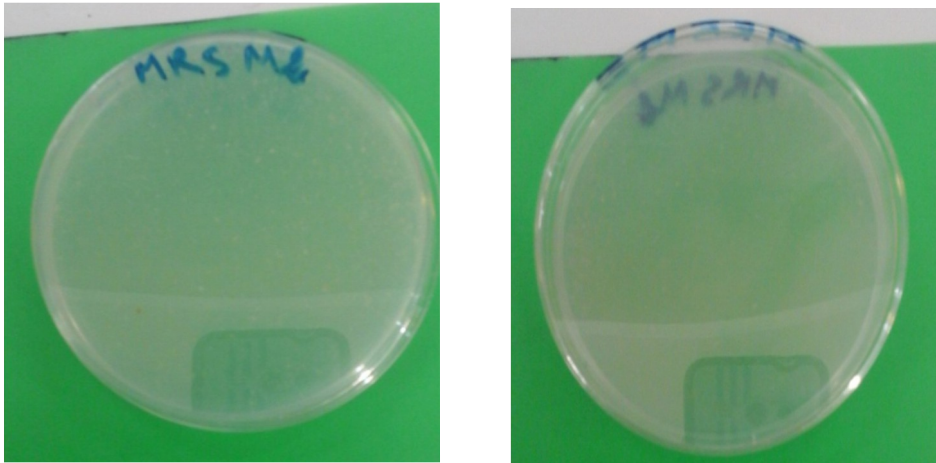
**Figure 28 :** résultats d'ensemencement de la souche d'*E. coli* sur la gélose TGEAM2

De ce qui précède, on peut conclure que chitine peut remplacer la tryptone dans la gélose TGEAM1, mais il peut subvenir aux besoins d'une bactérie non exigeante comme *E.coli* si l'extrait de viande est supprimé avec la tryptone. Donc, la croissance de la souche d'*E. coli* nécessite un minimum de facteur de croissance (Figure 29).



**Figure 29 :** aspect macroscopique et microscopique de la souche *d'E. coli* sur la gélose TGEA témoin TGEAM1.

- ✓ Préparation d'un milieu culture à partir de la chitine

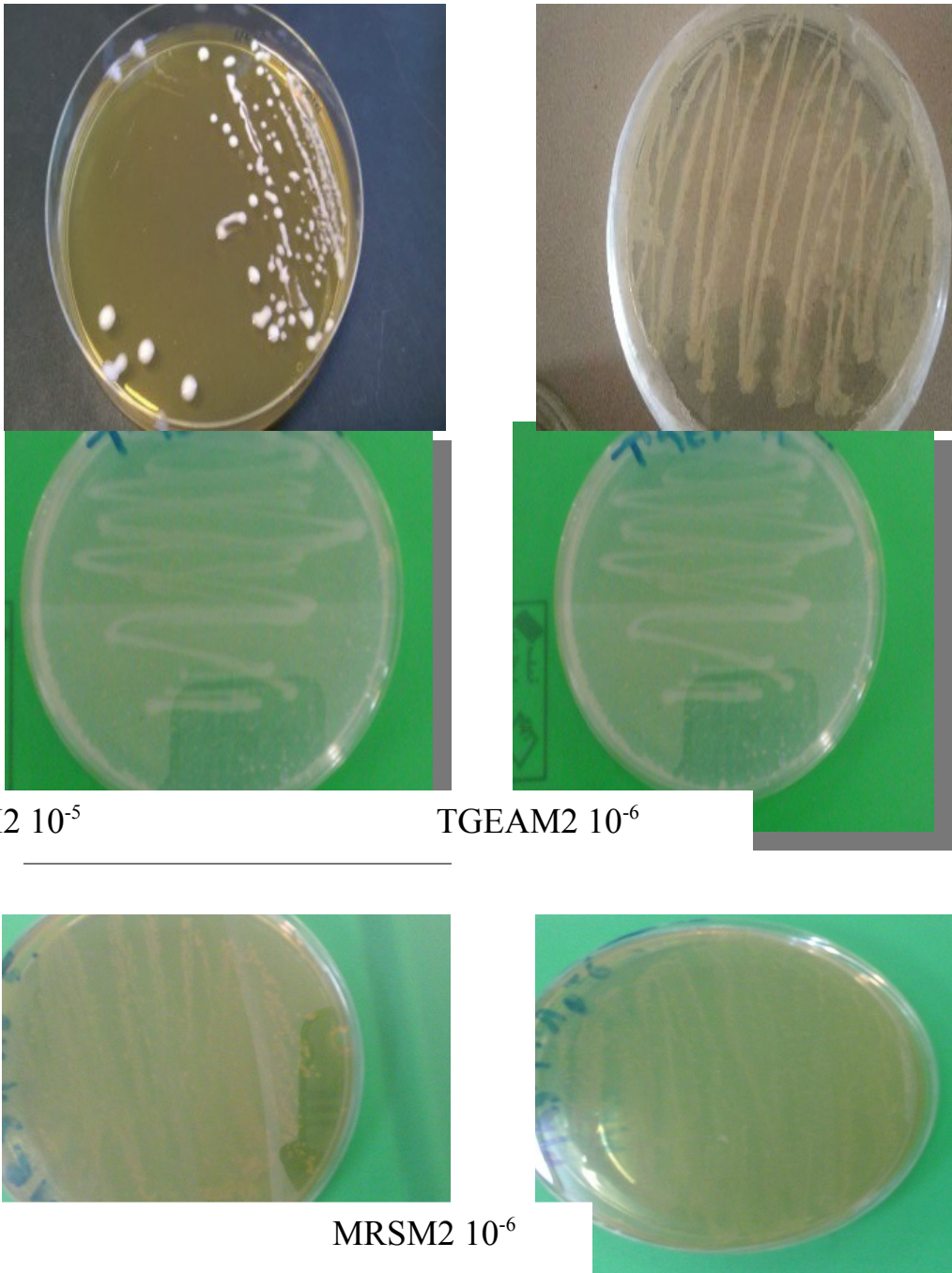


**Figure 30 :** Résultats d'ensemencement de la souche bactérienne MC9 dans le milieu MRSM2

On remarque une décroissance de la souche bactérienne MC9 dans le milieu MRSM2 par ce que le milieu ne possède pas les nutriments (Figure 30).

✓ **Préparation d'un milieu de culture à partir de déchet de crevette**

On remarque la croissance des souches bactériennes MC9 et *E.coli* dans les milieux utilisés (MRSM2, TGEAM1, TGEAM2), A cet effet, nous concluons que les souches bactériennes se nourrissent de la matière organique existant dans le déchet de crevette (Figure 31).



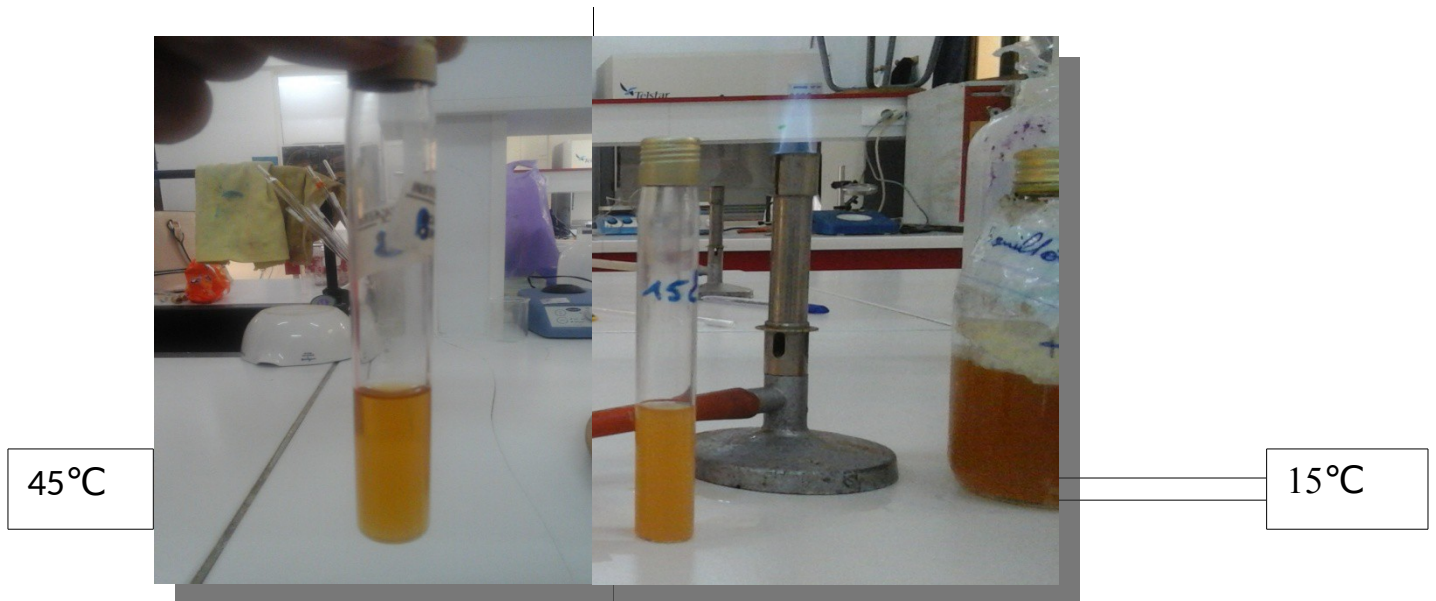
**Figure 31 :** Résultats d'ensemencement de dilution MC9 et *E.coli* dans les milieux utilisés

### III.3. Identification des bactéries lactiques

#### ✓ Test de production de catalase (Devyod et Muller,1969)

Ce test est à la base de l'identification des bactéries Gram<sup>+</sup>, on observe qu'il n'y a pas dégagement gazeux du dioxygène :catalase (Figure 32) ,

✓ **Test de croissance à différentes températures (Larpent, 1996)**



**Figure 32:** Croissance à différentes températures

On remarque qu'il n'y a pas de perturbation à la température  $15^{\circ}\text{C}$ . Et il y a une perturbation à température  $45^{\circ}\text{C}$ , donc on conclure la température  $45^{\circ}\text{C}$ , c'est la température appropriée pour la croissance bactérienne.

✓ **Teste de catalase**

Résultats négative de la souche Gram<sup>+</sup>: pas des bulles.

# Conclusion

## CONCLUSION

Au terme de ce présent travail, nous avons voulu avoir quelques informations sur les qualités des composés de la carapace de l'espèce de crevette rouge *Aristeus antennatus*, pêché dans la coté de Mostaganem.

Nous avons ainsi déterminé la composition chimique de la carapace, et avons pu isoler la chitine, et nous avons évalué son pouvoir antimicrobien (vis-à-vis bactéries Gram<sup>-</sup> et Gram<sup>+</sup>). Les résultats ont montré que les crevettes rouge sont constituées de : 60,4% de chaire, 18,8% de carapaces (on poids humide), 20,8% d'autres composants. Par ailleurs, dans l'ensemble la carapace de la crevette rouge est composée de : 42% d'humidité, 20% de cendres, 3,3% de lipides, 17% de protéines et 15,88% de chitine. Quant à la chitine, cette dernière est composée de : 1,13% de protéines, 0,3 de lipides, 2% de cendres et de 5% d'humidité. La méthode sélectionnée pour les protéines est la Méthode Sérère, qui demeure la plus fiable car elle apporte des informations complémentaires sur la composition précise en protéines.

Il est à noter, que la principale difficulté pour l'analyse des coproduits de crevettes, c'est que ces derniers sont caractérisés par un réseau dense de p ; de manière générale, plus le degré de pureté en chitine augmentait, plus les résultats obtenus par les différentes méthodes convergeaient.

Cependant, une seule méthode ne suffit donc pas pour déterminer la quantité de chitine. Pour notre étude, cette distinction est nécessaire. Il s'avère donc important d'appliquer un recoupement d'au moins deux méthodes distinctes, pour confirmer les résultats que l'on a obtenus.

De part la multiplicité des méthodes, il existe un nombre important de données cinétiques. Il serait probablement enrichissant d'approfondir l'exploitation de leur recoupement par l'emploi de la théorie de réconciliation des données dynamiques. Une telle approche devrait alors contribuer à affiner simultanément la précision des mesures et des modèles proposés. De plus, une étude économique approfondie permettrait de comparer la rentabilité de ce procédé par rapport à l'extraction chimique traditionnelle. Par ailleurs, on a noté aussi la détermination de son pouvoir antimicrobien du chitine contre 2 souches pathogènes (Gram<sup>-</sup>, Gram<sup>+</sup>).

Concernant les propriétés biologiques de la chitine, nous avons évalué la cinétique de croissance de deux souches *Lactobacillus bulgaricus* et *Escherichia coli*, en contact avec la chitine, on observe que la croissance bactérienne *E. coli* et bactérie lactique en milieux cultures diminuent considérablement au contact de la chitine. L'ensemble de ces résultats montrent l'intérêt de l'utilisation de la chitine celles-ci présente un pouvoir antimicrobien.

Nous nous proposons d'extraire, de caractériser et d'exploiter les propriétés de la chitine extraite de la carapace de crevette en tant que polymère, doté de propriété antibactérienne et leur application pour la conservation des produits alimentaires.

# Références Bibliographiques

## Références Bibliographiques

### -A-

**Arbia, Leila. (2009-2010).** Contribution à l'étude de la déminéralisation et la déprotéinisation de la carapace de la crevette par voie fermentaire.

**Arbia, W. (2007).** Production de la chitine par voie fermentation à partir d'une biomasse marine .Mémoire de magister, Ecole Nationale Polytechnique.

### -B-

**Benabbou, R. (2009).** Développement et caractérisation de films antimicrobiens pour la bio préservation des produits marins prêts à consommer. Université d'aval. Québec.

**Benkabouche Bekadja Ikram (2015)** .dynamique de la population de la crevette rose *Parapennaeus longirostris*( Lucas,1846) pêchée au niveau de la cote oranaise.

**Bordonave, N. (2009).** Chitine and chitosan.FS630.Room : 3151.

**Brine, C.J., Sandford, P .,Zikakis, A & John ,P. (1992).** Advances in chitin and chitosan ., Elsevier applied Science : 685.

### -C-

**Campillo, A. (1994).** Bio-ecology of *Aristeus antennatus* in the French Mediterranean. in Bianchini, M.L., Ragonese, S. (Eds.), Life cycles and fisheries of the deep-water red shrimps *Aristaeomorpha foliacea* and *Aristeus antennatus*. ITPP Special Publication, Mazara del Vallo, Italy : 25-26.

**Chim, L., Lucien-Brun, H., LeMoullac, G. (2002).** Marine shrimp farming. Fisheries and Aquaculture: Towards Sustainable Aquatic Living Resources Management, in Knowledge for sustainable development. An insight into the Encyclopedia of Life Support Systems, UNESCO Publishing-Eolss Publishers, Oxford, UK (II) : 1059.

### -D-

**Doumandji, A., Hellal, A., Saidi, N. (2010).** Purification de la bactériocine a partir de *lacctobacillus acidophilus 11* .,Rev .Microbiol.Ind .San et Envirom (4) :25-47.

### -F-

FAO. (2008). Report of the FAO Expert Workshop on the Use of Wild Fish and/or Other Aquatic Species as Feed in Aquaculture and Its Implications to Food Security and Poverty Alleviation, Kochi, Inde, 16-18 novembre 2007. Rapport sur les pêches. Rome (867).

FAO. (2010), Annuaire des statistiques des pêches et de l'aquaculture. Département des pêches et de l'aquaculture, FAO, Rome, Italie : 107.

### -G-

**Gillett R. (2008).** Global study of shrimp fisheries [en ligne]. Rome: FAO Fisheries Technical paper (475) : 331.

**GBIF. (2015).** *Aristeus antennatus* (Risso, 1816). The Global Biodiversity Information Facility.

### -H-

**Hudinaga, M. (1942).** Reproduction, development and rearing of *P. japonicus*. Jap. J. Zool. 10(2): 305-393.

**-I-**

**INPN. (2015).** *Aristeus antennatus* (Risso, 1816). In Muséum national d'Histoire naturelle [Ed.]. 2003-2013. Inventaire national du Patrimoine naturel.

**-K-**

**Kassai, M (2009).** Various Methode for determination of degre of N-Acetylation of Chitin and Chitosan : A Rvriew.J Food Chem.57(5) : 1667-1676.

**Kapris, K., Papaconstantinou, C. (2001).** Distribution et structure de la population de la crevette rouge (*Aristeus antennatus*) sur une zone de pêche inexploitée dans la Mer ionienne grecque .*Centre nationale pour la recherche Marine, Agios Kosmas , ,Hallinikon ,Grèce.* 16604.

**Kherraz, A. (2006).** Première Données sur la crevette rouge, *Aristeus antennatus* (RISSO1816) de la région Oranaise .Mémoire de magister, université d'oran : 97.

**-L-**

**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.

**Limam, Z., Sadok, S., El Abed, A. (2010).** Etude de la composition biochimique de la chair et des coproduits de la crevette royale *Penaeus kerathurus* du nord et sud de la Tunisi *Bull. Inst. Natn. Scien. Tech. Mer de Salammbô. (37) : 75-81p*

**-N-**

**Noël, P. (2015).** La crevette rouge *Aristeus antennatus* (Risso, 1816). In Muséum national d'Histoire.

**-P-**

**Lafontaine, P . (2005).** utilisation d'extraits de chitine et de chitosane pour lutter contre la gale commune de la pomme de terre (*streptomyces scabiei*).

**-R-**

**Rafalimanana, T. (2003).** Les crevettes pénéides exploitées sur la côte Ouest de Madagascar: Variabilités spatio-temporelles des paramètres biologiques et dynamiques des populations. Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes, Rennes : 261.

**Rosenberry, B. (2004).** World Shrimp Farming 2004. Shrimp News International, San Diego, CA, USA : 276.

**-S-**

**Sardà, F., D'Onghia, G., Politou, CY., Company, JB., Maiorano, P., Kapiris, K. (2003).** Deep-sea distribution, biological and ecological aspectsof *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) in the western and central Mediterranean Sea. SCI. MAR., 68 (Suppl. 3): 117-127.

**-T-**

**Théodoridès, J.** (1965). Grégarines d'invertébrés marins de la région de Banyuls. III. *Porospora soyeri* n. sp. (Eugregarina, Porosporidae) parasite de *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) (Decapoda, Penaeidae). Vie et Milieu (16) : 637–646.

**Thiriot, A.** (1970). Cycle et distribution de crustacés planctoniques de la région de Banyuls-sur-mer (Golfe du Lion). Étude spéciale des cladocères. Thèse de Doctorat d'État ès Sciences naturelles, Faculté des sciences de Paris : 308.

**-U-**

**Udekem d'Acoz, C.** (1999). Inventaire et distribution des crustacés décapodes de l'Atlantique nord-oriental, de la Méditerranée et des eaux continentales adjacentes au nord de 25°N. Collection Patrimoines Naturels, Service du patrimoine naturel, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris (40) :1-383.

**-W-**

**Wood-Mason, J., Alcock, A.** (1891). Natural History Notes from H.M. Indian Marine Survey Steamer « Investigator », Commander R. F. Hoskyn, R.N. commanding (21): 186-202.

**-Y-**

**Yahiaoui, M.** (1994). Distribution and reproduction cycle of *Aristeus antennatus* near en Alger and *Aristaeomorpha foliacea* near Annaba (Algeria) *N.T.R.I.T.P.P.*, special publication (3) :88.

**-Z-**

**Zo Randriamahatod, Y.** (2011). Valorisation biotechnologique des co-produits de crevette : utilisation de la protéolyse enzymatique pour des applications avicoles a Madagascar.

# ANNEXES

## Annexe

### Les milieux de culture

- **Milieu MRS (de Man ; Rogosa et Sharpe ,1960) :**

Peptone.....	5g
Extrait de viande .....	5g
Extrait de levure .....	2,5g
Glucose.....	10g
Tween 80.....	0,54g
Phosphate di potassique.....	1g
Acétate de sodium .....	2,5g
Citrate d'ammonium.....	1g
Sulfate de magnésium.....	0, 1g
Sulfate de manganèse.....	0,025g
Agar agar bactériologique.....	7, 5g
Eau distillé.....	500ml
PH.....	6,8

Stérilisation à l'autoclave : 120 °C pendant 20 minutes.

- **Milieux MRSM1**

La chitine.....	1g
Extrait de viande .....	5g
Extrait de levure .....	2,5g

Glucose.....	10g
Tween 80.....	0,54g
Phosphate di potassique.....	1g
Acétate de sodium .....	2,5g
Citrate d'ammonium.....	1g
Sulfate de magnésium.....	0, 1g
Sulfate de manganèse.....	0,025g
Agar agar bactériologique.....	7, 5g
Eau distillé.....	500ml
PH.....	6,8

Stérilisation à l'autoclave : 120 °C pendant 20 minutes .

- **Milieux MRSM2 :**

La chitine .....	5,225g
Tween 80 .....	0,108g
Agar-agar.....	1,5g
Eau distillée .....	100ml
PH.....	6,8

Stérilisation à l'autoclave : pendant 20 minutes.

- **Tryptone Glucose Extrait de levure Agar (TGEA)**

Extrait de viande .....	15g
Tryptone .....	3g
Agar.....	5g

Eau distillé.....500 ml

PH .....7

Autoclave 15 minutes à 120 °C .

- **Milieu TGEAM1**

La chitine .....0,6g

Extrait de viande .....0,3g

Agar.....1g

Eau distillée .....500ml

PH .....7

Autoclave 15 minutes à 120 °C .

- **Milieu TGEAM2**

La chitine .....0,9g

Agar.....1g

Eau distillée.....100ml

PH .....7

Autoclave 15 minutes à 120 °C .

- **Eau physiologique**

Chlorure de sodium.....8,5g

Peptone.....0,5g

Eau distillée.....1L

## **Coloration de Gram**

- **Principe de la coloration de Gram**

Les bactéries Gram positives possèdent une paroi riche en peptidoglycane, un composant qui empêche l'alcool d'emporter le violet de Gentiane, celui-ci restant dans le cytoplasme. Les bactéries n'étant pas décolorées.

Les bactéries Gram négatives possèdent une paroi pauvre en peptidoglycane, un composant qui empêche d'emporter le violet de Gentiane, celui-ci sort du cytoplasme. Les bactéries sont décolorées.

## **Mode opératoire**

- **Réalisation du frottis**

Elle nécessite d'avoir un frottis fixé, soit :

1. Par l'alcool durant 5 minutes (et rinçage à l'eau).
2. Plus classiquement en effectuant une fixation simple à l'eau et à flamme selon les indications suivant : sur une lame, déposer une goutte d'eau stérile. Etaler et fixer à la chaleur pendant 10 à 15 minutes. Poser la lame séchée sur le portoir reposant sur un bac de coloration.

- **Réalisation de la coloration**

Voici succinctement les différentes étapes de cette coloration :

1. Coloration par le violet de gentiane ou cristal violet .Laisser agir de 30 secondes à 1 minute .Rincer à l'eau déminéralisée.
2. Mordançage au lugol (solution d'iode iode -iodurée) : étaler le lugol et laisser agir 20 secondes ; Rincer à l'eau déminéralisée. on peut réaliser une deuxième fois l'opération identiquement pour plus de sécurité.
3. Décoloration (rapide) à l'alcool (+acétone) : verser goutte à goutte l'alcool ou un mélange alcool sur la lame inclinée obliquement, et surveiller la décoloration (5 à 10 secondes). Le filet doit être clair à la fin de la décoloration. Rincer sous un filet d'eau déminéralisée.

4. Recoloration à la safranine ou à la fuchsine. Laisser agir de 30 secondes à 1 minute, laver doucement à l'eau déminéralisée, sécher la lame à 40 °C , 10 à 15 minutes.
5. Observer avec une goutte d'huile à immersion objectif 100 (grossissement x1000).

Les étapes 1 et 2 colorent en violet le contenu de la bactérie. Le violet de gentiane se fixe sur les composants cytoplasmiques de toutes les bactéries. Le lugol permet de fixer cette coloration interne (Erik Favre, 2000).

L'étape 3 (alcool) sert à décolorer le cytoplasme des bactéries qui seront dites Gram négatives. En effet, celles-ci ont une paroi riche en lipides (phospholipides LPS) qui va laisser passer l'alcool (molécule lipophile) ou le mélange alcool-acétone, et qui décolorera le cytoplasme en éliminant le violet de gentiane, au contraire, pour les bactéries dites Gram positif, la paroi constitue une barrière imperméable à l'alcool car trop épaisse et gluco-protéique, elles resteront alors violettes.

L'étape 4 est une contre-coloration ayant pour but de redonner aux bactéries Gram négatives précédemment décolorées une teinte rose permettant de les visualiser au microscope, les bactéries à Gram positif restées violettes seront évidemment insensibles à cette contre-coloration plus pale que le violet imprégnant leur cytoplasme.

Ces différences de coloration et les différences de formes (bacille ou cocci) sont à l'origine de la classification des bactéries.

### **Teste de catalase**

Ce teste est à la base de l'identification des bactéries Gram<sup>+</sup>

- **Technique**

- ✓ Sur une lame propre et sèche déposer une goutte eau oxygénée à 10 volumes.
- ✓ A l'aide d'une pipette pasteur boutonnée, ajouter l'inoculum bactérien. Observer immédiatement.
- ✓ Au contact d'une colonie isolée ou sur la pente d'une culture en gélose, déposer une goutte d'eau oxygénée.

- ✓ Observer immédiatement .

### **Résultats**

- Apparition de bulles, dégagement gazeux de dioxygène : catalase<sup>+</sup>
- Pas de bulles : catalase<sup>-</sup>.