

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE ABDELHAMID IBN BADIS DE MOSTAGANEM

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE  
Laboratoire de Protection, Valorisation des Ressources Marine Littoral et Systématique  
Moléculaire



**Thèse de doctorat**

Présenté par :  
M<sup>elle</sup> OULHIZ Aïcha

Pour obtenir  
LE DIPLOME DE DOCTORAT EN SCIENCES

Spécialité: Biologie  
Option : Ecologie et Environnement Marin

**Intitulé :**

---

*Évaluation, valorisation et utilisation des coproduits de la crevette rouge *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) et du thon *Thunnus thynnus* (Linné, 1758) pour l'alimentation du tilapia rouge (*Oreochromis sp*).*

---

Soutenue le /Décembre/ 2018 devant le jury composé de :

|                  |                     |       |  |
|------------------|---------------------|-------|--|
| <b>Président</b> | Chadli R.           | Prof. | Université Abdelhamid Ibn Badis - Mostaganem |
| <b>Examineur</b> | Bouderbala M.       | Prof. | Université d'Oran 1 Ahmed Benbella           |
| <b>Examineur</b> | Bekada A.M.A.       | Prof. | Centre Universitaire de Tissemsilt           |
| <b>Examineur</b> | Bensahla T.L.       | MCA   | Université d'Oran 1 Ahmed Benbella           |
| <b>Examineur</b> | Bachir-Bouiadjra B. | MCA   | Université Abdelhamid Ibn Badis - Mostaganem |
| <b>Promoteur</b> | Soualili D.L.       | Prof. | Université Abdelhamid Ibn Badis - Mostaganem |

**Année universitaire  
2018-2019**

## Préambule

L'objectif principal de la thèse s'inscrit sur le thème de la valorisation de différentes ressources marines disponibles au niveau national, afin de les utiliser en aquaculture. Ce sujet de recherche représente une contribution à la fabrication d'aliments destinés aux poissons d'élevage, afin d'améliorer la production piscicole. Au début de ce travail, les espèces choisies, ont été sélectionnées selon les travaux menés au niveau du centre national de la recherche et du développement de la pêche et de l'aquaculture de Bou-Ismaïl, en collaborant aux deux grands projets du CNRDPA, concernant la crevette à patte blanche au niveau de l'écloserie de Skikda et le bar (loup de mer) au niveau de la ferme marine de Bou-Ismaïl. A cet effet, le thème de thèse défini était comme suit :

« Évaluation, valorisation et utilisation des coproduits de la crevette *Penaeus japonicus* et du thon rouge *Thunnus thynnus* pour l'alimentation du loup de mer d'élevage *Dicentrarchus labrax* ».

Cependant, nous avons eu beaucoup de difficultés à avoir accès aux deux ressources la crevette *Penaeus japonicus* et le loup de mer d'élevage *Dicentrarchus labrax*. En raison du retard accusé pour les deux projets par le centre CNRDPA, alors nous avons dû choisir d'autres espèces accessibles telles que la crevette rouge *Aristeus antennatus* et le tilapia rouge (*Oreochromis sp*), dont son aliment est importé. Ainsi le thème redéfini s'intitule comme suit :

**Thème** : Évaluation, valorisation et utilisation des coproduits de la crevette rouge *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) et du thon *Thunnus thynnus* (Linné, 1758) pour l'alimentation du tilapia rouge (*Oreochromis sp*).

## *Remerciements*

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde reconnaissance à mon encadreur sans qui ce travail n'existerait tout simplement pas. Il m'est très difficile d'exprimer en quelques lignes ma profonde gratitude pour mon encadreur, Professeur **Soualili Dina Lila**, pour sa responsabilité scientifique tout au long de ce travail. Je le remercie chaleureusement pour son soutien, sa compréhension, sa confiance et surtout ses encouragements. C'est avec un grand plaisir que je rédige mes chaleureux remerciements d'avoir grandement contribué, à améliorer le document final.

De même, je souhaite exprimer ma reconnaissance envers les membres du jury :

J'exprime ma sincère gratitude à Monsieur **Chadli Rabah**, pour m'avoir honoré en acceptant de présider le jury de thèse.

Je tiens aussi à exprimer toute ma reconnaissance à Monsieur **Bouderbala Mohammed**, professeur à l'université d'Oran, qui a bien voulu se rendre disponible pour examiner ce travail et de m'avoir fait part de ses remarques pertinentes pour accomplir ce manuscrit.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance et mes sincères remerciements à Monsieur **Bekada Ahmed Mohamed Ali**, professeur au centre universitaire de Tissemsilt, pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant d'être membre du jury de thèse, qu'il me soit permis de lui exprimer ma sincère gratitude.

J'adresse également mes respectueux remerciements à Monsieur **Bachir Bouiadjra Benabdallah**, Maître de conférences à l'université de Mostaganem d'avoir accepté de faire partie de ce jury, je le suis très reconnaissante pour le temps qu'il a consacré à examiner mon travail.

Je tiens aussi à exprimer ma gratitude à Monsieur **Bensahla Talet Lotfi**, Maître de conférences à l'université d'Oran, d'avoir accepté de participer à ce jury de thèse, qu'il accepte tous mes remerciements.

Il m'est particulièrement agréable de pouvoir exprimer toute ma profonde reconnaissance à Monsieur **Mezali Karim**, Directeur du laboratoire Protection, Valorisation des Ressources Marines Littorales et Systématique Moléculaire (PVRMLSM) de l'université de Mostaganem, pour ses constructifs conseils, sa disponibilité quasi-immédiate et son soutien scientifique.

J'adresse mes sincères remerciements à Monsieur **Nasri Moncif**, Directeur du laboratoire (LGEM-ENIS) à Sfax, Tunisie, pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire pour un stage précieux de formation sur les enzymes.

Je désire exprimer toute ma respectueuse reconnaissance à Madame ***Ouldali Ouardia***, Maitre de conférences à l'université de Mascara, et mes sincères remerciements à Monsieur ***Bouzouina Mohamed***, Maitre de conférences à l'université de Mostaganem pour toutes leurs aides et informations qu'ils ont pu m'apporter tout le long de la réalisation de ma thèse.

Mes remerciements les plus sincères s'adressent enfin à tous mes professeurs de l'université de Mostaganem, à tous mes collègues, à tous mes amis(es) de l'Algérie et de Tunisie, et ***toute personne ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.***

*Merci à ma mère, mes frères et sœurs  
pour leur soutien pendant toutes ces années d'études.*

*A tous ceux, qui ont rendu ma vie plus brillante  
par simple acte de bonté.....*



*A la mémoire de mon père Otmane,  
papa repose en paix.*

## Résumé

Les co-produits de la mer représentent des ressources biologiques valorisables pouvant générer différentes molécules d'intérêts nutritionnels et biologiques. Ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des co-produits de thon rouge (*Thunnus thynnus*) et de crevette rouge (*Aristeus antennatus*) par la mise en œuvre de techniques plus douces afin d'obtenir des composés d'intérêt et d'étudier les potentiels alimentaires de ces derniers. Pour cela, deux enzymes commerciales actives à pH extrême ont été testées. La Pepsine s'est avérée être la plus appropriée pour les co-produits de crevette, alors que la Savinase est appropriée pour les co-produits de thon, conduisant à la production d'hydrolysats de qualité nutritionnelle qui peuvent améliorer les performances de croissance des poissons aquacoles, obtenues avec des aliments préparés à base de ces hydrolysats. D'autres produits résiduels de la protéolyse des co-produits de crevette, moins chargés en matières minérales et en protéines, ont été valorisés : la chitine et chitosane. Les résultats obtenus, à la fin de cette étude, suggèrent que l'hydrolyse enzymatique constitue une méthode efficace pour l'amélioration de la qualité nutritionnelle des co-produits de la mer et de leurs dérivés, la génération de substances à activité antimicrobienne et antioxydantes, tout en favorisant l'extraction de la chitine et de chitosane.

**Mots-clé** : Co-produits, crevette et thon, protéolyse enzymatique, chitine et chitosane, activité antimicrobienne et antioxydante, poisson aquacole.

## Abstract

The by-products of the sea represent valuable biological resources that can generate different molecules nutritional and biological interest. This work is part of the valorization of by-products of bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) and red shrimp (*Aristeus antennatus*) through the implementation of milder techniques in order to obtain compounds of interest and to study the food potentials of the latter. For this, two active commercial enzymes at extreme pH were tested. Pepsin has been found to be the most appropriate for shrimp by-products, while Savinase is suitable for tuna by-products, leading to the production of nutritional quality hydrolysates that can improve the growth performance of aquaculture fish, Obtained with foods prepared based on these hydrolysates. Other residual products of the proteolysis of shrimp by-products, less loaded with minerals and proteins, have been valued: chitin and chitosan. The results obtained at the end of this study suggest that enzymatic hydrolysis is an effective method for improving the nutritional quality of sea by-products and their derivatives, the generation of substances with antimicrobial and antioxidants activity, while promoting the extraction of chitin and chitosan.

**Keywords:** By-products, shrimp and tuna, enzymatic proteolysis, chitin and chitosan, antimicrobial and antioxidant activity, aquaculture fish.

## ملخص

تمثل المنتجات المشتقة من البحر موارد بيولوجية قيمة و التي يمكن أن تولد جزيئات ذات فوائد غذائية و بيولوجية مختلفة. هذا العمل هو جزء من تثمين المنتجات المشتقة من التونة (ثونوس ثونوس) والجمبري (أرستئوس أنتناتوس) من خلال تنفيذ تقنيات أطف من أجل الحصول علي مركبات ذات فائدة ودراسة الإمكانيات الغذائية لهذه الأخيرة. لهذا ، تم اختبار اثنين من الانزيمات التجارية الناشطة في درجات الحموضة القصوى. وقد وجدت البيبسين لتكون الأكثر ملاءمة لمنتجات المشتقة من الجمبري، في حين السافيناز مناسب لمنتجات المشتقة من التونة، مما يؤدي إلى إنتاج هيدروليزات ذات جودة غذائية و التي يمكن ان تحسن من تطورالنمو لدى اسماك الاستزراع المائي، التي تم الحصول عليها بالأطعمة المعدة بهذه الهيدروليزات. وقد قيمت المنتجات المتبقية الأخرى من الانحلال البروتيني للمنتجات الثانوية للجمبري، ذات الاقل نسبة من المعادن والبروتينات: كيتين و كيتوزان. النتائج التي تم الحصول عليها في نهاية هذه الدراسة تشير إلى ان التحلل المائي الانزيمي هو وسيله فعاله لتحسين نوعيه التغذية من المنتجات البحرية ومشتقاتها، وتوليد المواد المضادة للميكروبات والمضادة للاكسدة ، في حين تعزز استخراج الكيتين و الكيتوزان.

**الكلمات الرئيسية:** المنتجات المشتقة ، الجمبري والتونة ، التحلل الانزيمي ، الكيتين و الكيتوزان ، النشاط المضاد للجراثيم والاكسدة، اسماك الاستزراع المائي.

## LISTE DES FIGURES

|   | Page |
|---|------|
| Figure 1. Production mondiale des pêches et de l'aquaculture (Source FAO, 2018) .....   | 4    |
| Figure 2. Evolution de la production mondiale des pêches et de l'aquaculture par année<br>(Source FAO, 2018) .....  | 5    |
| Figure 3. Aspect général du thon rouge de l'Atlantique <i>Thunnus thynnus</i> (Linné, 1758) .....   | 8    |
| Figure 4. Zone de répartition du thon rouge de l'Atlantique <i>T. thynnus</i> (Linné, 1758).....  | 9    |
| Figure 5. Technique de pêche par senne (source Ifremer, 2012) .....   | 11   |
| Figure 6. Aspect général d' <i>Aristeus antennatus</i> (Risso, 1816) .....  | 13   |
| Figure 7. Répartition géographique d' <i>Aristeus antennatus</i> (Risso, 1816) .....  | 14   |
| Figure 8. Principaux co-produits issus d'un poisson (Ifremer, 2010) .....   | 15   |
| Figure 9. Schéma illustrant la composition des co-produits de thon, exprimée en pourcentage<br>du poids (CPS, 2014) .....   | 16   |
| Figure 10. Proportions des différentes voies de valorisation des co-produits d'origine marine<br>(Andrieux, 2004) .....   | 17   |
| Figure 11. La farine de poisson et sa liqueur d'huile (Mickaël, Pêcher Malin, 2016) .....   | 19   |
| Figure 12. Production mondiale de la farine de poisson selon la source. (OCDE/FAO, 2016).   | 20   |
| Figure 13. L'utilisation mondiale de farine (A) et d'huile de poisson (B) (Schippe, 2008) ....  | 21   |
| Figure 14. Schéma de fabrication de la farine et huile de poisson (Ifremer 2009) .....  | 21   |
| Figure 15. Structure chimique de la chitine (forme $\alpha$ et $\beta$ ) .....  | 25   |
| Figure 16. Structure chimique générale du chitosane .....   | 29   |
| Figure 17. Procédé industriel de fabrication de la chitine et de ses dérivés (France Chitine)   | 30   |
| Figure 18. Production aquacole totale (en tonnes). (FAO, 2018) .....  | 40   |
| Figure 19. Photographie de <i>Tilapia Oreochromis sp</i> .....  | 45   |
| Figure 20. Incubation bucale des œufs du <i>Tilapia rouge Oreochromis. Sp</i> .....   | 46   |
| Figure 21. (A) Aspect général de la crevette rouge <i>A. antennatus</i> , (B) et de thon rouge<br>( <i>T. thynnus</i> ), (C) les co-produits après décorticage de la crevette (carapaces +<br>têtes), (D) les co-produits récupérés après filetage (têtes, queue, peau et arêtes)...                        | 53   |
| Figure 22. Schéma réactionnel de la libération de proton H <sup>+</sup> lors de l'hydrolyse<br>enzymatique à pH > 6,5 .....   | 54   |
| Figure 23. Structure chimique du radical libre DPPH (Popovici et al., 2009) .....   | 60   |
| Figure 24. Réaction de test DPPH (Congo, 2012) .....  | 61   |
| Figure 25. Mise en évidence de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion en<br>puits (AWDT) (CA-SFM, 2015) .....   | 63   |
| Figure 26. Distribution des composants biochimiques dans les co-produits de crevette rouge<br>et de thon rouge (en %) par rapport au du poids sec .....   | 64   |
| Figure 27. Cinétiques d'hydrolyse des co-produits de thon et de crevette avec les deux<br>enzymes. Sav.Ct : hydrolyse de crevette par Savinase, Pep.Ct : hydrolyse de<br>crevette par la Pepsine, Sav.Th : hydrolyse de crevette par Savinase, Pep.Th :<br>hydrolyse de thon par la Pepsine .....           | 66   |
| Figure 28. Solubilisation de la matière lors des hydrolyses enzymatiques de 6 heures des<br>co-produits de crevette rouge et de thon rouge .....  | 68   |
| Figure 29. Distribution des protéines dans les deux phases lors de différentes hydrolyses<br>enzymatiques de 6 heures .....   | 71   |
| Figure 30. Capacité de piégeage du DPPH (%) des hydrolysats à différentes concentrations.<br>HEC <sub>Al/Ac</sub> : Hydrolysats protéiques de crevette en condition alcaline/acide,<br>HET <sub>Al/Ac</sub> : Hydrolysats protéiques de Thon en condition alcaline/acide, A.Asc :<br>Acide ascorbique ..... | 74   |
| Figure 31. Aspect des co-produits de la crevette rouge ( <i>A. antennatus</i> ) issus de l'hydrolyse<br>enzymatique (chitine) .....   | 78   |
| Figure 32. Le chitosane, polymère dérivé de la chitine par désacétylation (Devin, 2015) .....   | 81   |
| Figure 33. Les étapes d'hydrolyse chimique et enzymatique de la chitine et du chitosane<br>issus des crevettes rouges .....   | 82   |

|   |     |
|---|-----|
| Figure 34. Mise en évidence de l'activité antimicrobienne par la méthode des spots.....   | 87  |
| Figure 35. Technique de dilution et de dénombrement par des spots (Schéma de Otsmane)....   | 88  |
| Figure 36. Aspect final du chitosane obtenu par différentes méthode d'extraction de la chitine. (A et B) extraction chimique de la chitine, (C et D) extraction enzymatique de la chitine .....   | 90  |
| Figure 37. Le degré de désacétylation du chitosane (DD) obtenu par les différentes extractions de la chitine à partir des co-produits de la crevette rouge. HC1: hydrolyse chimique1, HC2: hydrolyse chimique2, HE <sub>Al</sub> : hydrolyse enzymatique alcaline (Savinase), HE <sub>Ac</sub> : hydrolyse enzymatique acide (Pepsine). Lettres <sup>(a-c)</sup> indiquent des différences significatives ( $p \leq 0,05$ ) ..... | 91  |
| Figure 38. La solubilité du chitosane dans l'acide acétique à 1 % .....   | 91  |
| Figure 39. Capacité de piégeage du DPPH (%) du chitosane à différentes concentrations (1, 2,5, 5, 7,5, 10 mg /ml). C.HC1-2 : Chitosane obtenu à partir de la chitine extraite par hydrolyse chimique1-2, C.HE <sub>Al/</sub> Ac : Chitosane obtenu à partir de l'extraction enzymatique alcaline/acide de la chitine. A.Asc : Acide ascorbique .....  | 93  |
| Figure 40. Capacités antioxydantes du chitosane à différentes concentrations (0,2, 1, 2,5, 5, 7,5, 10 mg / ml) grâce aux tests d'activité antioxydante totale. C.HC1-2 : Chitosane obtenu à partir de la chitine extraite par hydrolyse chimique1-2, C.HE <sub>Al/</sub> Ac : Chitosane obtenu à partir de l'extraction enzymatique alcaline/acide de la chitine. A.Asc : Acide ascorbique .....                                  | 94  |
| Figure 41. Aspect des zones d'inhibition de la croissance microbienne en présence du chitosane par la méthode de diffusion en puits .....   | 96  |
| Figure 42. Pouvoir antibactérien du chitosane (diamètre d'inhibition) contre <i>Escherichia coli</i> .....  | 96  |
| Figure 43. Mesure de la cinétique de croissance de la souche <i>Staphylococcus aureus</i> mise en contact avec le chitosane à DO <sub>600</sub> nm à 37°C .....   | 98  |
| Figure 44. Résultats de la mesure de cinétique de croissance de la souche <i>Escherichia coli</i> mise en contacte avec le chitosane à DO <sub>600</sub> nm après chaque deux heures d'incubation à 37°C .....  | 98  |
| Figure 45. Diagramme de la fabrication d'un isolat protéique .....  | 100 |
| Figure 46. Aspect du développement bactérien sur gélose MRS après 48 h d'incubation. A) MRS témoin, B) MRS <sub>M1</sub> , C) MRS <sub>M2</sub> .....   | 104 |
| Figure 47. (A) Aspect de la bactérie lactique en milieu MRS, (B) observation microscopique de la bactérie après coloration de gram (X100) .....   | 104 |
| Figure 48. Vue satellitaire de la localisation du station d'écloserie (CNRDPA) près du barrage Sidi Ali Benyoub, W-SBA .....  | 107 |
| Figure 49. Photographie de <i>Tilapia Oreochromis sp</i> .....  | 108 |
| Figure 50. Schéma technique de fabrication de la farine de poisson .....  | 109 |
| Figure 51. Types d'aliments commerciaux utilisés comme témoins positifs : (A) GARDON (1.5 mm pour alevins) et (B) PREMIUM COARSE (6.0 mm pour adulte) de la marque Coppens (d'origine : Allemagne) .....  | 110 |
| Figure 52. Types de tailles de l'aliment fabriqué au niveau du laboratoire .....  | 112 |
| Figure 53. Courbes de croissance en masse corporelle de tilapia ( <i>Oreochromis sp</i> ) alimenté par différent aliment pendant cinq mois d'expérience. AT1 : aliment témoin négatif, AT2 : aliment témoin positif, A1 : aliment à base d'hydrolysat de crevette ; A2 : aliment à base d'hydrolysat de thon et A3 : aliment à base de farine de thon et d'hydrolysat de crevette .....   | 115 |

## LISTE DES TABLEAUX

|   | Page |
|---|------|
| Tableau 1. Utilisation de la production mondiale de poisson ( <i>en millions de tonnes</i> ) .....  | 5    |
| Tableau 2. Utilisation potentielle des co-produits de poissons .....  | 17   |
| Tableau 3. Variabilité de la teneur de la chitine chez quelques organismes .....  | 25   |
| Tableau 4. Les différents produits à haute valeur ajoutée issus de co-produits de crevette et leur utilisation .....  | 33   |
| Tableau 5. Bioactivité de peptides isolés des co-produits de la mer .....   | 37   |
| Tableau 6. Les productions aquacoles de poisson (tonnes/an), entre 2006 – 2012. (MPRH 2014)   | 41   |
| Tableau 7. Formule (ingrédients) et composition immédiate (% de matière sèche) des granulés communément utilisés à différents stades de la vie du tilapia du Nil dans des systèmes d'élevage intensifs. (FAO, Creswell 2005) .....  | 48   |
| Tableau 8. Qualité de l'eau requise pour l'élevage des Tilapia (Suresh, 2003) .....   | 49   |
| Tableau 10. Composition biochimiques exprimé en (%) des co-produits de thon rouge et de la crevette rouge par rapport à la matière sèche .....  | 64   |
| Tableau 11. Composition des différentes fractions des co-produits de thon et de la crevette après 6 h de protéolyse avec des enzymes commerciales exprimé en (%) .....  | 71   |
| Tableau 12. Profil en acides aminés des hydrolysats des co-produits de la crevette et de thon (HECAc, HETAl) (en mg/g du poids sec) .....   | 72   |
| Tableau 13. Résultats de la diffusion sur agar semi-solide par la méthode des puits AWDT (Culture bactérienne en surface) en contact avec les différents hydrolysats protéiques. HPC <sub>Al/Ac</sub> : hydrolysats protéiques de la crevette obtenue par digestion alcaline/acide, HPT <sub>Al/Ac</sub> : hydrolysats protéiques du thon obtenue par digestion alcaline/acide .....  | 75   |
| Tableau 14. Les rendements massiques des différents extractions de la chitine et du chitosane à partir des co-produits d' <i>Aristeus antennatus</i> de la côte ouest algérienne. HC1: hydrolyse chimique1, HC2: hydrolyse chimique2, HES: hydrolyse enzymatique alcaline (Savinase), HEP: hydrolyse enzymatique acide (Pepsine). [Valeurs sont en moyenne mean ± SD (n = 3). Les moyennes avec lettres différentes (a-d) dans une colonne indiquent une différence significative (p ≤ 0,05)] ..... | 90   |
| Tableau 15. Composition biochimiques de la matière première séchée, de la chitine et du chitosane purifiés (par rapport à la matière sèche). HC1-2: hydrolyse chimique1-2, HES: hydrolyse enzymatique alcaline (Savinase), HEP: hydrolyse enzymatique acide (Pepsine). [Valeurs sont en moyenne mean ± SD (n = 3). Les moyennes avec lettres différentes (a-d) dans une colonne indiquent une différence significative (p ≤ 0,05)] .....  | 92   |
| Tableau 16. Résultat de la diffusion sur agar semi-solide par la méthode des puits (AWDT) en contacte avec le chitosane. C.HC1-2: Chitosane obtenu à partir de la chitine extraite par hydrolyse chimique1-2, C.HE <sub>Al/Ac</sub> : Chitosane obtenu de l'extraction enzymatique alcaline/acide de la chitine.[ Valeurs sont en moyenne mean ± SD (n=3). Les moyennes avec lettres différentes (a-d) dans une ligne indiquent une différence significative (p ≤ 0,05)] .....                      | 95   |
| Tableau 17. Composition biochimiques exprimé en (%) de la poudre des co-produits et de l'isolat protéique par rapport à la matière sèche .....  | 103  |
| Tableau 19. Composition des rations expérimentales à densité constante de protéines, quantités en g/kg de farine.[ CMV : Compléments Minéraux et Vitaminiques ; HPC <sub>Ac</sub> : Hydrolysats protéiques issue de l'hydrolyse acide (Pepsine) des co-produits de crevette ; HPT <sub>Al</sub> : Hydrolysats protéiques issue de l'hydrolyse alcalin (Savinase) des co-produits de crevette; FT: farine de thon] .....   | 111  |
| Tableau 20. Composition biochimiques exprimé en (%) de la farine de thon en poudre par rapport à la matière sèche .....   | 114  |

Tableau 21. Performances zootechniques de tilapia nourris avec des rations expérimentales.  
[GMQ : Gain Moyen Quotidien ; TCS : taux de Consommation spécifique ; IC :  
Indice de Consommation ; CAJ : Consommation Alimentaire Journalière ; GPA :  
Gain de Poids absolu ; CEP : Coefficient d'efficacité protéique ; AT1 : aliment  
témoin négatif, AT2 : aliment témoin positif, A1 : aliment à base d'hydrolysate de  
crevette ; A2 : aliment à base d'hydrolysate de thon et A3 : aliment à base de farine  
de thon et d'hydrolysate de crevette] .....

## LISTE DES ABREVIATIONS

|               |  |
|---------------|--|
| <b>AAE</b>    | Acides Aminés Essentiels   |
| <b>AANE</b>   | Acides Aminés Non Essentiels   |
| <b>CAJ</b>    | Consommation Alimentaire Journalière   |
| <b>CEP</b>    | Coefficient d'Efficacité protéique   |
| <b>CICTA</b>  | Commission Internationale pour la Conservation des Thonidés de l'Atlantique  |
| <b>CMV</b>    | Compléments Minéraux et Vitaminiques   |
| <b>CNRDPA</b> | Centre National de la Recherche et du Développement de la Pêche et de l'Aquaculture  |
| <b>CPS</b>    | Secrétariat général de la Communauté du Pacifique.   |
| <b>CTA</b>    | Centre Technique de l'Aquaculture  |
| <b>DH</b>     | Degré d'Hydrolyse  |
| <b>DO</b>     | Densité optique  |
| <b>DO</b>     | Oxygène dissous  |
| <b>FAO</b>    | (Food and Agriculture Organization of the United Nations) Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. |
| <b>GMQ</b>    | Gain Moyen Quotidien   |
| <b>IC</b>     | Indice de Consommation   |
| <b>LB</b>     | lysogeny broth ou incorrectement milieu Luria-Bertani.   |
| <b>MPRH</b>   | Ministère de la Pêche et des Ressources Halieutiques   |
| <b>MRS</b>    | Man, Rogosa and Sharpe.  |
| <b>OCDE</b>   | Organisation de Coopération et de Développement Economiques  |
| <b>TGEA</b>   | Tryptone Glucose Extract Agar.   |

## SOMMAIRE

|                        |   |
|------------------------|---|
| LISTE DES FIGURES      |   |
| LISTE DES TABLEAUX     |   |
| LISTE DES ABREVIATIONS |   |
| INTRODUCTION .....     | 1 |

### CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

|  |    |
|--|----|
| I.1 PRODUCTION MONDIALE DES PÊCHES ET DE L'AQUACULTURE                                 | 4  |
| I.1.1 Utilisation et transformation du poisson .....                                   | 5  |
| I.1.2 Consommation du poisson .....  | 6  |
| I.2 GÉNÉRALITÉ SUR LES ESPÈCES ÉTUDIÉES .....  | 7  |
| I.2.1 Généralités sur le thon <i>Thunnus thynnus</i> (Linnaeus, 1758) .....            | 7  |
| • Synonymes .....  | 7  |
| • Noms d'après FAO/ ICCAT .....  | 8  |
| • Classification .....   | 8  |
| I.2.1.1 Répartition géographique .....   | 9  |
| I.2.1.2 Le thon rouge et son exploitation .....  | 10 |
| I.2.2 Généralités sur la crevette rouge <i>Aristeus antennatus</i> (Risso, 1816) ..... | 11 |
| I.2.2.1 Production des crevettes .....   | 12 |
| • Systématique et Classification .....   | 13 |
| • Synonymes .....  | 13 |
| • Noms d'après FAO .....   | 13 |
| • Scientific Name .....  | 14 |
| I.2.2.2 Distribution géographique de crevette <i>Aristeus antennatus</i> .....         | 14 |
| I.3 VALORISATION DES COPRODUIT DE LA MER .....   | 15 |
| I.3.1 Utilisation des co-produits de poisson .....                                     | 16 |
| I.3.2 Importance et valorisation des co-produits .....                                 | 16 |
| I.3.3 Les voies de valorisation des co-produits marins .....                           | 18 |
| I.3.3.1 La farine et l'huile de poisson .....  | 18 |
| I.3.3.1.1 Fabrication de farine et de l'huile de poisson .....                         | 21 |
| I.3.3.2 Les Hydrolysats .....  | 22 |
| I.3.3.2.1 L'Autolysats .....   | 22 |
| I.3.3.2.2 L'Hydrolyse chimique .....   | 22 |
| I.3.3.2.3 L'Hydrolyse enzymatique .....  | 23 |
| I.3.3.2.4 Les isolats de protéines légèrement modifiées par hydrolyse .....            | 23 |
| I.3.4 Valorisation des co-produits de la mer .....                                     | 23 |
| I.3.4.1 la chitine .....   | 24 |
| I.3.4.1.1 Les propriétés de la chitine .....   | 25 |
| • Degré de N-acétylation .....   | 26 |
| • Solubilité de la chitine .....   | 26 |
| • Biocompatibilité .....   | 26 |
| I.3.4.1.2 Procédé d'extraction de la chitine .....                                     | 27 |
| I.3.4.1.2.1 La production de chitine par voie chimique .....                           | 27 |
| • La déminéralisation .....  | 27 |
| • La déprotéinisation .....  | 27 |

|  |    |
|--|----|
| • Blanchiment .....  | 27 |
| I.3.4.1.2.2 Traitements biologique .....   | 28 |
| I.3.4.2 Le chitosane .....   | 28 |
| I.3.4.2.1 Production de chitosane (Processus de désacétylation) .....                        | 29 |
| I.3.4.2.2 Propriétés biochimiques de chitosane et son application .....                      | 30 |
| I.3.4.2.2.1 Degré d'acétylation (DA) .....   | 30 |
| I.3.4.2.2.2 Activité antibactérienne du chitosane .....                                      | 31 |
| I.3.4.2.2.3 Activité antioxydant du chitosane .....  | 32 |
| I.3.4.2.3 Application de la chitine et de chitosane Biocompatibilité .....                   | 33 |
| I.3.4.3 Hydrolysats protéiques (peptides) .....  | 36 |
| I.3.4.3.1 Les applications des dérivés de l'hydrolyse isolés des co-produits de la mer ..... | 36 |
| I.3.4.4 Autres produits dérivés à haute valeur ajoutée Biocompatibilité .....                | 38 |
| I.4 GÉNÉRALITÉS SUR L'ALIMENTATION EN AQUACULTURE .....                                      | 39 |
| I.4.1 L'aquaculture en Algérie .....   | 40 |
| I.4.2 La production mondiale de Tilapia rouge .....  | 42 |
| I.4.3 Présentation de l'espèce Tilapia rouge .....   | 43 |
| I.4.3.1 Classification .....   | 45 |
| I.4.3.2 Géographie de la production de tilapias .....  | 47 |
| I.4.3.3 Alimentation des tilapias .....  | 47 |
| I.4.3.4 Exigences écologiques Biocompatibilité .....   | 50 |

## CHAPITRE II : HYDROLYSE ENZYMATIQUE DES CO-PRODUITS MARINS ET VALORISATION DES FRACTIONS RÉSULTANTES

|   |    |
|---|----|
| II.1 L'HYDROLYSE ENZYMATIQUE DES PROTÉINES DE THON ROUGE ET DE<br>LA CREVETTE ROUGE ..... | 52 |
| 1. Introduction Biocompatibilité .....  | 52 |
| 2 Matériels et méthodes .....   | 53 |
| 2.1 Matériel biologique .....   | 53 |
| 2.2 Matériel enzymatique .....  | 53 |
| 2.3 Hydrolyses enzymatiques .....   | 54 |
| 2.3.1 Déroulement de l'hydrolyse .....  | 55 |
| 2.3.2 Arrêt de l'hydrolyse .....  | 56 |
| 2.3.3 Traitement des hydrolysats .....  | 56 |
| 2.3.4 Calcul du degré d'hydrolyse .....   | 56 |
| 2.4 Analyses biochimiques .....   | 57 |
| 2.4.1 Matière humide .....  | 57 |
| 2.4.3 Teneur en lipides .....   | 58 |
| 2.4.4 Teneur en protéines .....   | 59 |
| 2.5 Pouvoir antioxydant des hydrolysats protéiques obtenues .....                         | 60 |
| 2.5.1 Activité antioxydante totale (TAC) .....  | 60 |
| 2.5.2 Capacité de piégeage des radicaux DPPH .....  | 61 |
| 2.6 Activité antimicrobienne des hydrolysats protéiques .....                             | 62 |
| 2.6.1 Souches microbiennes .....  | 62 |
| 2.6.1.1 Réactivation et purification des souches pathogènes .....                         | 62 |
| 2.6.1.2 Conservation des souches pathogènes .....   | 62 |
| Conservation de courte durée .....  | 63 |
| Conservation de longue durée .....  | 63 |
| 2.6.1.3 Le renouvellement et l'enrichissement des souches pathogènes .....                | 63 |

|   |    |
|---|----|
| 2.6.2 Méthode de diffusion en puits AWDT .....  | 63 |
| 2.7 Analyse statistique .....   | 65 |
| 3. RESULTATS ET DISCUSSION .....  | 65 |
| 3.1 Composition biochimique des co-produits marins .....  | 67 |
| 3.2 Cinétique des hydrolyses .....  | 68 |
| 3.2.1 Solubilisation de la matière lors des hydrolyses .....  | 69 |
| 3.2.2 Composition des différentes fractions issues de l'hydrolyse .....   | 72 |
| 3.2.3 Composition en acides aminés des fractions solubles obtenues après hydrolyse des co-produits de thon et de crevette ..... | 74 |
| 3.3 Identifications des propriétés fonctionnelles des hydrolysats protéiques .....  | 74 |
| 3.3.1 Capacité de récupération des radicaux libres DPPH .....   | 75 |
| 3.4 Recherche des propriétés antibactériennes .....   | 78 |

## II.2 EXTRACTION ET PURIFICATION DE LA CHITINE ET DE CHITOSANE

|  |    |
|--|----|
| 1. Introduction .....  | 78 |
| 2 Matériel et méthodes .....   | 78 |
| 2.1 Identification et préparation de la matière première .....                             | 78 |
| 2.2 Méthode d'extraction de la chitine .....   | 79 |
| 2.2.1 Extraction chimique de la chitine .....  | 79 |
| 2.2.1.1 Déminéralisation .....   | 79 |
| 2.2.1.2 Déprotéinisation .....   | 80 |
| 2.2.1.3 Décoloration .....   | 80 |
| 2.2.2 Extraction enzymatique de la chitine .....   | 80 |
| 2.2.2.1 La déminéralisation .....  | 81 |
| 2.2.2.2 La déprotéinisation .....  | 81 |
| 2.2.2.2.1 Protéase alcaline .....  | 81 |
| 2.2.2.2.2 Protéase acide .....   | 81 |
| 2.3 Méthode d'extraction du chitosane .....  | 81 |
| 2.3.1 Extraction chimique .....  | 81 |
| 2.3.2 Calcul des degrés de déprotéinisation et de déminéralisation .....                   | 84 |
| 2.3.3 Degré d'acétylation (DA) du chitosane .....  | 84 |
| 2.3.4 Teneur en chitines .....   | 85 |
| 2.3.5 Solubilisation du chitosane .....  | 85 |
| 2.4 Composition biochimique .....  | 86 |
| 2.5 Activité antioxydante du chitosane .....   | 86 |
| 2.5.1 Capacité de piégeage des radicaux DPPH .....   | 86 |
| 2.5.2 Capacité antioxydante totale (TAC) .....   | 86 |
| 2.6 Activité antimicrobienne .....   | 87 |
| 2.6.1 Diffusion sur agar semi-solide par méthode des spots .....                           | 87 |
| 2.6.2 Cinétique de croissance bactérienne mises en contact avec le chitosane .....         | 88 |
| 2.6.3 Mesure de la densité optique .....   | 89 |
| 2.7 Analyses statistiques .....  | 90 |
| 3. RESULTATS ET DISCUSSION .....   | 90 |
| 3.1 Rendement en masse de l'extraction de chitine et de chitosane .....                    | 90 |
| 3.2 Degré de désacétylation du chitosane (DD) .....  | 91 |
| 3.3 Analyse biochimique des co-produits de la crevette, de la chitine et du chitosane..... | 92 |
| 3.4 Activité antioxydante .....  | 93 |
| 3.4.1 Capacité de récupération des radicaux libres DPPH .....                              | 93 |
| 3.4.2 Activité antioxydante totale .....   | 94 |
| 3.5 L'activité antimicrobienne du chitosane .....  | 95 |

|   |    |
|---|----|
| 3.5.1 Diffusion sur agar semi-solide par méthode des spots .....                  | 97 |
| 3.5.2 Cinétique de croissance bactérienne mise en contact avec le chitosane ..... | 98 |
| 3.5.2.1 Dénombrement des souches .....  | 98 |
| 3.5.2.2 Mesure de la densité optique .....  | 98 |
|   | 99 |

## II.3 VALORISATION DES CO-PRODUITS DE THON ROUGE : APPLICATION À LA MICROBIOLOGIE .....

|  |     |
|--|-----|
| 1. Introduction .....  | 99  |
| 2. Matériels et méthodes .....   | 100 |
| 2.1 Hydrolyse chimique et préparation de l'isolat protéique .....                | 100 |
| 2.1.1 Hydrolyse alcaline .....   | 100 |
| 2.2 Caractérisation biochimique des produits obtenus .....                       | 101 |
| 2.3 Préparation des milieux de culture .....                                     | 102 |
| 2.3.1 Préparation d'un milieu de culture pour des bactéries lactiques .....      | 102 |
| 2.4.2 Préparation d'un milieu de culture pour des bactéries <i>E. coli</i> ..... | 102 |
| 2.4 Isolement des bactéries lactiques .....                                      | 103 |
| 2.4.1 L'identification des souches isolées .....                                 | 103 |
| 2.4.2 Caractères morphologiques .....  | 103 |
| 2.4.3 Caractères biochimiques .....  | 103 |
| 3. RESULTAT ET DISCUSSION .....  | 104 |
| 3.1 Analyse biochimique des co-produits de thon et de l'isolat protéique .....   | 104 |
| 3.2 Analyses microbiologiques .....  | 104 |
| 3.2.1 Etude microbiologique sur les milieux de culture modifiés .....            | 104 |
| 3.3 Isolement des bactéries lactiques à partir des co-produits de thon .....     | 105 |

## CHAPITRE III : ETUDE DE L'EFFICACITÉ NUTRITIONNELLE DES HYDROLYSATS PROTÉIQUES OBTENUES EN AQUACULTURE DE L'HYBRIDE TILAPIA ROUGE (*OREOCHROMIS SP.*)

|  |     |
|--|-----|
| 1. Introduction .....  | 107 |
| 2. Matériel et méthodes .....  | 108 |
| 2.1 Présentation de la station d'expérimentation .....                       | 108 |
| 2.2 Matériel d'élevage .....   | 108 |
| 2.3 Fabrication de la farine de poisson à base des co-produits de thon ..... | 109 |
| 2.4 Formulation des aliments pour Tilapia .....                              | 111 |
| 2.4.1 Procédé de la fabrication des aliments .....                           | 112 |
| 2.5 Fréquences de nourrissage .....  | 113 |
| 2.6 Estimation des performances zootechniques .....                          | 113 |
| ➤ Gain de poids .....  | 113 |
| ✓ Gain moyen quotidien (GMQ) .....   | 113 |
| ✓ Gain de poids absolu (GPA) .....   | 113 |
| ➤ Taux de croissance spécifique (TCS) .....                                  | 114 |
| ➤ Taux de survie .....   | 114 |
| ➤ Consommation alimentaire journalière (CAJ) .....                           | 114 |
| ➤ Indice de conversion ou Indice de consommation (IC) .....                  | 114 |
| ➤ Coefficient d'Efficacité Protéique (CEP) .....                             | 114 |
| 3. Résultats et discussion .....   | 115 |
| 3.1 Rendement et qualité biochimique de la farine de thon .....              | 115 |
| 3.2 Perfectionnement des aliments expérimentaux pour tilapia .....           | 115 |
| 3.3 Contrôle de croissance du poisson tilapia .....                          | 115 |
| 3.3.1 Croissance pondérale des poissons .....                                | 115 |

|  |            |
|--|------------|
| <b>3.4 Performances zootechniques du tilapia .....</b> | <b>116</b> |
| <b>CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES .....</b>       | <b>119</b> |
| <b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>                     |            |
| <b>ANNEXES</b>   |            |

# **INTRODUCTION**

## INTRODUCTION

La production mondiale de poissons provenant des pêches et de l'aquaculture, a été estimée à 171 millions de tonnes (FAO, 2018). Cependant, une grande partie de ce tonnage fait l'objet d'une transformation telles que le filetage, l'étêtage, l'éviscération, le pelage, ...etc pour être ensuite utilisée en alimentation humaine. Ces étapes de transformation génèrent une quantité considérable de déchets composés principalement de têtes, de viscères, de nageoires, de peaux et d'arêtes... ; estimée à 50% du poids de la production mondiale de poissons (Mackie, 1982 ; Jeon et *al.*, 1999, Kristinsson et Rasco, 2000 ; Je et *al.*, 2007).

Cependant, ces déchets renferment plusieurs substances méritant d'être valorisées: On peut citer entre autres des protéines, des lipides, de la chitine, de l'astaxanthine (Lee, 1999 ; Babu et *al.*, 2008), des micro-nutriments tels que les vitamines A et D, le calcium, le magnésium et le phosphore (Liaset et *al.*, 2000 ; Aspomo et *al.*, 2005). La valorisation des co-produits permettrait, en plus du respect de l'environnement, de minimiser les problèmes de contaminations, et de maximiser le profit des entreprises. Elle consiste à les transformer de façon à ce qu'ils deviennent des matières premières ou des matières intermédiaires pour la production d'autres produits. Compte tenu de la nature des substances qu'ils renferment, ils peuvent être utilisés pour la nutrition humaine (FAO, 2014; Sing et *al.*, 2014; Zhang et *al.*, 2014) et animale sous forme de farine (Rebeca et *al.*, 1991 ; Valdimarsson et James, 2001), la nutraceutique et la pharmaceutique, la cosmétique (antioxydants, antistress, anti-hypertensifs, collagènes, pigments...) (Liceaga et Li-Chan, 1999 ; Kristinsson et Rasco, 2000a, 2000b ; Liaset et *al.*, 2000 ; 2003).

Le thon et la crevette font partie des espèces marines les plus importantes économiquement. Soyiri et *al.*, (2008) ont estimé que, dans les conserveries de thon, de l'ordre de 60-70% du volume de poissons entrant se retrouvent comme déchets après la mise en conserve et selon Randriamahatody et *al.*, (2011), la partie rejetée représente près de 40% du poids de la crevette entière. Ces déchets de thon et de crevette s'avèrent relativement riches en protéines, il semble donc intéressant d'adopter une stratégie de récupération de ces protéines et de voir s'il est possible de les utiliser notamment comme ingrédients dans les produits alimentaires animales. Dans ce secteur, les voies de valorisation des co-produits de poissons consistent principalement en la transformation de ces derniers en farine, en huile et en production d'ensilage. Ce n'est que bien après qu'est apparue la transformation de ces derniers en hydrolysats protéiques issues des procédés de la protéolyse contrôlée par utilisation d'enzymes exogènes. C'est une des méthodes qui permet la récupération des protéines tout en

respectant les propriétés intrinsèques des matières premières (Hoyle, 1994; Gildberg et *al.*, 2002, Daukšas et *al.*, 2005; Šližyte et *al.*, 2005). Cependant, au cours de ces dernières années, le développement de nouvelles applications a accru la demande pour ces enzymes. La plus grande partie du marché des enzymes est liée aux enzymes de type hydrolytique comme les protéases, les lipases et les cellulases.

La nutrition est un domaine clé pour l'aquaculture, et plus particulièrement pour l'aquaculture intensive. Ce type d'élevage dépend en effet intégralement d'une alimentation exogène qui représente par conséquent une part élevée des charges d'exploitation, pouvant atteindre 60% (Médale et Kaushik, 2009). L'aliment doit ainsi être adapté aux besoins nutritionnels de l'espèce tout en répondant à un certain nombre de contraintes : coût et disponibilité des matières premières, procédés de fabrication, impact faible sur l'environnement .... etc. La recherche de nouveaux ingrédients permettant de diminuer les besoins en farines de poisson et de renforcer la résistance des animaux face aux facteurs biotiques et abiotiques est ainsi un enjeu majeur pour le développement d'une aquaculture durable. Certains auteurs attribuent le perfectionnement de la croissance des poissons à une augmentation de la prise alimentaire grâce à une augmentation de l'appétence (Refstie et *al.*, 2004) et/ou à une augmentation de l'efficacité alimentaire, c'est-à-dire une augmentation du gain de poids pour une même quantité d'aliment ingéré (Aksnes et *al.*, 2006). L'aquaculture en Afrique et en particulier en Algérie, que se soit marine ou continentale, est une activité plutôt récente et en est encore au stade de développement, dépendante à cent pour cent de l'importation d'aliment pour accomplir ces besoins. Parmi les espèces cultivées en Algérie, on retrouve le tilapia (*Oreochromis sp*), poisson à valeur économique et nutritive. Ce dernier est utilisé en aquaculture dans diverses régions d'Algérie, dont l'aliment est importé et que toutes les recherches nationales portant sur la fabrication d'un aliment en substitut de l'aliment importé sont encouragées par les pouvoirs publics.

A cet effet, le principal objectif de ce travail consiste à proposer des procédés de valorisation des co-produits de thon rouge et de crevette rouge afin de les utiliser en alimentation aquacole. Cette étude est représentée comme suit par :

- ✓ Une introduction;
- ✓ Le Chapitre I où sont exposées les généralités en relation avec la thématique;
- ✓ Le Chapitre II et le Chapitre III représentant l'étude expérimentale menée sur les co-produits des deux espèces étudiées;

- ✓ La conclusion;
- ✓ Et les references bibliographiques

Le premier chapitre fait l'état de la revue bibliographique qui porte sur la situation mondiale de la pêche et de l'aquaculture en général, une attention particulière sera portée sur les espèces étudiées pour hydrolyse, et leurs exploitations. Les différentes stratégies de valorisation des deux co-produits sont ensuite présentées et discutées puis le procédé de l'hydrolyse et notamment de l'hydrolyse enzymatique des matières premières marines est détaillé. Nous présenterons ensuite, les secteurs d'applications qui vont être abordés lors de cette étude : la fabrication de farine et d'aliment destiné à la nutrition aquacole.

Le deuxième chapitre se divise en trois parties, il présente la partie expérimentale sur les hydrolyses enzymatiques des co-produits de thon et de crevette, avec deux protéases commerciales, fonctionnant à pH extrême. Dans un premier temps, la composition de ces co-produits est déterminée. Lors de l'hydrolyse enzymatique, plusieurs paramètres sont étudiés tels que : le degré d'hydrolyse, la solubilisation de la matière et notamment de l'azote, la composition biochimique des différentes fractions résultantes, ect... Ces expériences permettront de choisir l'enzyme qui convient le mieux pour valoriser chaque coproduit séparément. Aussi, ces sources protéiques vont être expérimentées dans une application microbiologie, en comparaison à un isolat protéique préparé chimiquement.

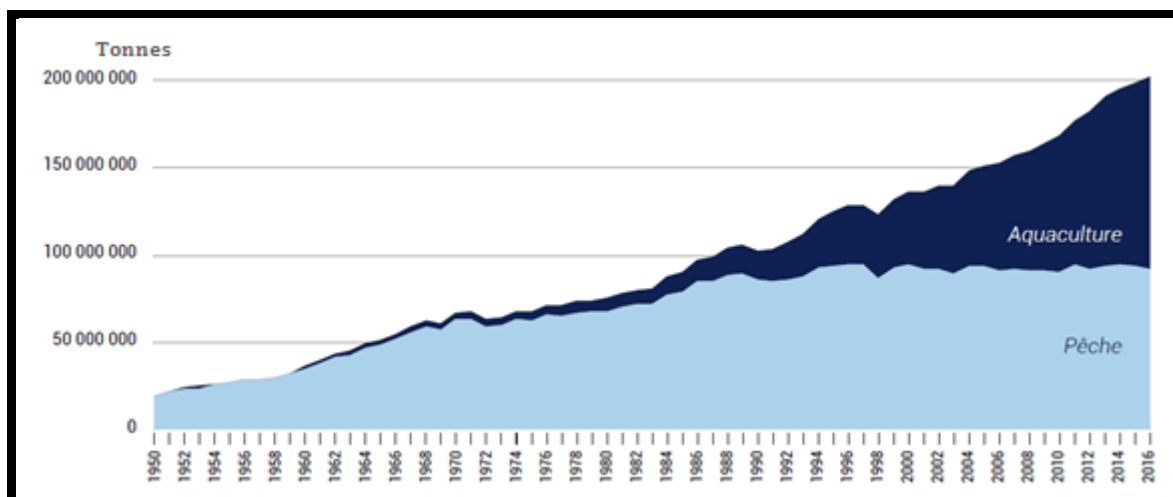
Quant au troisième chapitre, il porte sur l'évaluation *in vivo* des performances de ces hydrolysats intégrées à l'alimentation d'un poisson d'eau douce le tilapia rouge. Pour cela, différents aliments, préparés à base de protéines végétales et animale et d'autres incorporés d'hydrolysats issus de la protéolyse des co-produits de thon et de crevette, seront évaluées. Différents paramètres zootechniques seront ainsi mesurés : taux de survie, gain de poids, taux de conversion alimentaire, coefficient d'efficacité protéique, etc.. ; afin de comparer les performances des différents aliments fabriqués à celles de l'aliment commercial.

**ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**  
**CHAPITRE I**

## CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

### I.1 PRODUCTION MONDIALE DES PÊCHES ET DE L'AQUACULTURE

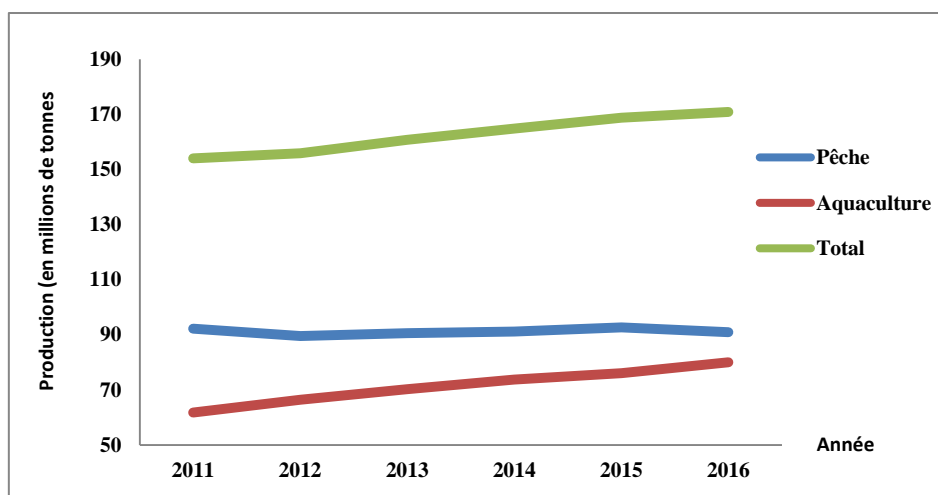
Selon le rapport «Situation mondiale» publié en 2018, la production halieutique mondiale a atteint, en 2016, une valeur record d'environ 171 millions de tonnes, le secteur de l'aquaculture comptant pour 47% de ce chiffre, voire 53% si l'on exclut la production destinée à des utilisations non alimentaires (y compris la production de farine et d'huile de poisson) (Fig.1 et 2). Par ailleurs, la stabilité de la production de la pêche depuis la fin des années 1980, est due à l'aquaculture dont la croissance est continue et impressionnante. Ce qui permet une forme de disponibilité de poissons destinés à la consommation humaine (Fig.2).



**Figure 1.** Production mondiale des pêches et de l'aquaculture (Source FAO, 2018)

D'après la base de données de la FAO, la production mondiale de la pêche de capture s'élevait à 90,9 millions de tonnes en 2016. Elle était en baisse par rapport aux deux années précédentes 2015 et 2014 (91,2 et 92,7 respectivement) (Tab.1). La chute du volume des prises concernait 64 % des 25 principaux pays producteurs mais seulement 37% des 170 autres pays.

La contribution de l'aquaculture à la production mondiale (cumulée de la pêche et de l'aquaculture) n'a cessé d'augmenter : elle est passée de 36,16% en 2011 à 46,8% en 2016 (FAO, 2018). Ces dernières années, l'aquaculture continue de se développer plus rapidement que d'autres grands secteurs de production alimentaire (Fig.2).



**Figure 2.** Evolution de la production mondiale des pêches et de l'aquaculture par année  
(Source FAO, 2018)

### I.1.1 Utilisation et transformation du poisson

Ces dernières décennies, la demande de produits de la pêche destinée à la consommation humaine directe n'a cessé d'augmenter. D'après le tableau 1, en 2016, plus de 88,47% de la production mondiale de poisson était utilisée pour la consommation humaine directe. Les 11,52% restants étaient destinés à un usage non alimentaire, notamment à la production de farine de poisson et d'huile de poisson, dans l'industrie pharmaceutique, comme matière première pour l'alimentation directe des poissons d'élevage, du bétail et des animaux à fourrure...etc. S'agissant de la production destinée à la consommation humaine directe, la plus grande partie est commercialisée sous forme de poissons vivants frais (45%), ou réfrigérés (31%), du poissons préparés et mis en conserve (12 %) et du poissons séchés, salés, saumurés, fermentés et fumés (12%) (FAO, 2018).

**Tableau 1.** Utilisation de la production mondiale de poisson (*en millions de tonnes*) (FAO, 2018).

| Années  | 2011 | 2012  | 2013  | 2014  | 2015  | 2016  |
|---|------|-------|-------|-------|-------|-------|
| <b>Consommation humaine</b>                     | 130  | 136,4 | 140,1 | 144,8 | 148,4 | 151,2 |
| <b>Usage non alimentaire</b>                    | 24   | 19,6  | 20,6  | 20    | 20,3  | 19,7  |
| <b>Consommation apparente par habitant (Kg)</b> | 18,5 | 19,2  | 19,5  | 19,9  | 20,2  | 20,3  |

### **I.1.2 Consommation du poisson**

Depuis 1961, la consommation annuelle de poisson par personne est passée de 9,0 kilogrammes en 1961 à 20,3 kg en 2016, soit une augmentation moyenne d'environ 1,5% par an. Les estimations préliminaires concernant 2017 font apparaître une hausse : la consommation était passée de 20,3 kg à 20,5 kg. La progression de la consommation s'explique non seulement par l'augmentation de la production mais, aussi, par l'association de plusieurs facteurs, notamment la réduction du gaspillage, une utilisation plus complète, l'amélioration des canaux de distribution et la demande croissante, qui est liée à l'accroissement démographique, à la hausse des revenus et à l'urbanisation (FAO, 2018).

La contribution Algérienne à la production mondiale des poissons est très modeste. Il y a 20 principaux ports de pêche le long de la côte algérienne. La plate-forme continentale mesure environ 13 700 km<sup>2</sup> et la zone de pêche environ 95 000 km<sup>2</sup>. En 2013, le nombre total de navires opérant dans ces ports était estimé à 4 569, dont 526 chaluts et 1 231 senneurs.

La production de captures marines est stable entre 100 000 et 105 000 tonnes depuis 2011, dont le gros des captures est représenté par les petites espèces pélagiques. Tandis que, la production aquacole reste marginale, avec 2 200 tonnes en 2013, soit 1 560 tonnes de carpes élevées en eau douce, 350 tonnes de dorades royales d'eau saumâtre et une très petite quantité de moules et d'huîtres. La majeure partie de la production est vendue fraîche sur les marchés locaux. Actuellement, l'Algérie s'associe à un pays asiatique pour développer la production d'alevins de crevettes marines, ainsi qu'une culture de grossissement de poissons d'eaux douces dans le pays (FAO globefish, 2015).

Les exportations de poisson et de produits de la pêche sont plutôt limitées et ont diminué de 57% entre 2008 et 2013 en raison de la diminution des captures. Cependant, en 2014, ils ont augmenté de 22%. Au cours de la période 2008-2014, les importations algériennes de poissons et de produits de la pêche ont augmenté de 336%, alors que les derniers chiffres de la consommation annuelle par habitant sont estimés à 3,9 kg en 2012 (FAO globefish, 2015).

Le développement du secteur de la pêche et de l'aquaculture relève du ministère des pêches et des ressources aquatiques, créé en 2000 pour soutenir le développement de la pêche en tant que secteur de subsistance potentiel. Depuis 2001, l'Algérie a promulgué une législation sur la pêche et l'aquaculture. Il a modernisé son centre national de recherche et de développement sur les pêches et l'aquaculture (2008). En général, les ressources halieutiques ne sont pas pleinement exploitées. Des possibilités existent notamment pour le développement de la

pêche artisanale, notamment sur les fonds rocheux et des pêcheries de petits pélagiques. L'industrie de la pêche nécessite un effort important de modernisation et d'investissements, notamment pour la réhabilitation de la flotte vieillissante (âge moyen des bateaux : 20 ans) et des installations de traitement. Concernant l'aquaculture, la totalité de la production (30 000 t/an) est destinée à la consommation intérieure. D'après MPRH, la production de 9 000 t de produits halieutiques par an dont plus de 7 000 t de poisson bleu, 921 t de poisson blanc, 242 t de crustacés et 78 t de squalé et espadon. La production halieutique (hors aquaculture) a atteint 108.000 t en 2017 contre 102.000 t en 2016, Cette hausse de la production a aussi concerné l'aquaculture avec 4.200 t en 2017.

## I.2 GÉNÉRALITÉ SUR LES ESPÈCES ÉTUDIÉES

### I.2.1 Généralités sur le thon *Thunnus thynnus* (Linnaeus, 1758)

Le thon est un des principaux produits de la mer faisant l'objet d'échanges internationaux. Il représente 5% des quantités pêchées dans le monde et destinées à l'alimentation humaine, mais compte pour plus de 10% dans la valeur des échanges internationaux. (Charles et Paquette, 1999). Le thon est une des espèces marines les plus importantes économiquement. Les sept espèces principales pêchées et consommées sur le marché international sont la bonite (*Katsuwonus pelamis*), le thon jaune (*Thunnus albacarIIes*), le thon obèse (*Thunnus obesus*), le thon blanc (*Thunnus alalunga*), le thon rouge de l'Atlantique (*Thunnus thynnus*), le thon rouge du Sud (*Thunnus maccoyii*), le thon rouge du Pacifique (*Thunnus orientalis*) (Oceanic développement, 2005). La capture totale de ces espèces est passée de 2,5 millions de tonnes à 4,3 millions de tonnes entre 1998-2003 (Josupeit, 2005). En 2006, la production mondiale de thon était d'environ 5 millions de tonnes (Hoang, 2009).

Le thon rouge *Thunnus thynnus* (Linné, 1758) est un poisson Téléostéen Actinoptérigien de l'ordre des Perciformes et de la famille des Scombridés (Fig.3). Avec un poids maximal situé couramment entre 250 et 620 kg, atteignant parfois presque un tonne, il est l'un des plus gros Téléostéens, d'où l'origine probable de son nom "thon" que Heldt (1926) attribut au mot phénicien *Thon* ou *Than* désignant « les plus grands animaux aquatiques ».

- **Synonymes**

*Thynnus thynnus* (Cuvier, 1817), *Thynnus mediterraneus* (Risso, 1826), *Thynnus vulgaris* (Cuvier in Cuvier & Valenciennes, 1831), *Thynnus orientalis* (Temminck & Schlegel, 1844), *Thunnus vulgaris* (South, 1845), *Thynnus secundo-dorsalis* (Storer, 1855), *Orcynus thynnus* (Poey, 1875), *Orcynus schlegelii* (Steindachner in Steindachner & Döderlein, 1884), *Albacora*

*thynnus* (Jordan, 1888), *Thunnus thynnus* (Jordan & Evermann, 1896), *Thunnus schlegelii* (Jordan & Snyder, 1900), *Thunnus secundodorsalis* (Jordan & Evermann, 1926), *Thunnus thynnus thynnus* (Serventy, 1956)

- **Noms d'après FAO/ ICCAT**

Atlantic bluefin tuna (Anglais), Thon rouge de l'Atlantique (Français), Atún rojo del Atlántico (Espagne), Toun ahmar (Tunisie), Tonno (Italie), Tonn (Malt), Roter Thun (Allemagne), Tunczyk zwykly, Tunczyk blekitnoplewy (Pologne), Tunna (Egypte), Tonnikala (Finlande), Atún cimarrón, Atún de aleta azul (Chili), Blouvin-tuna, Bluefin tuna (Afrique du sud), Orkinos (Turquie), Bluefin tuna, Tunny (Royaume-Uni), Bluefin tuna (Etats-Unis) .....

- **Classification**

**Règne** : Animalia (Linnaeus, 1758)

**Sous-Règne** : Eumetazoa

**Embranchement** : Chordata

**Infra-embranchement** : Vertebrata

**Super-Classe** : Gnathostomata

**Classe** : Actinopterygii

**Infra-classe** : Teleostei

**Ordre** : Perciformes

**Sous-Ordre** : Scombroidei

**Famille** : Scombridae

**Genre** : *Thunnus*

**Espèce** : *thynnus* (Linné, 1758)



**Figure 3.** Aspect général du thon rouge de l'Atlantique .

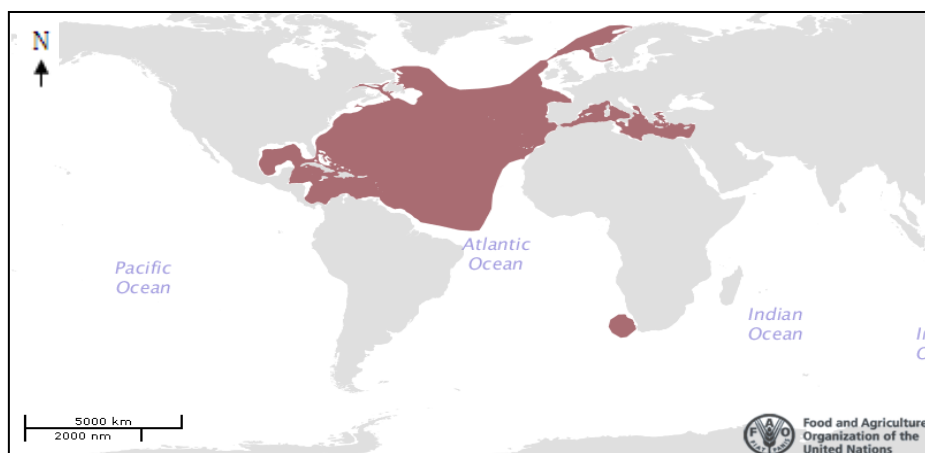
Le thon rouge est la plus grande espèce de thonidés. Il possède un corps allongé et fusiforme, plus robuste à l'avant. Sa taille maximale peut dépasser 4 m de long. Son poids maximal officiel est de 726 kg, mais plusieurs pêcheries opérant dans l'Atlantique Ouest et en Méditerranée ont signalé des poids allant jusqu'à 900 kg (Mather et Jones, 1995). vitesse de nage avoisinant les 80 km/h grâce à des qualités hydrodynamiques hors du commun (nageoires pectorales et dorsales parfaitement rétractables, corps puissant et fusiforme, ailerons stabilisateurs...), capacités de prédation hors du commun, fécondité exceptionnelle, croissance rapide, et pas ou très peu de prédateurs, hormis les grands requins et les orques.

### I.2.1.1 Répartition géographique

Il existe au moins deux sous-espèces, une dans l'Atlantique et une dans le Pacifique. La sous-espèce atlantique se rencontre depuis le Labrador et Terre-Neuve vers le sud, dans le golfe du Mexique et la mer des Caraïbes, et se trouve également au large du Venezuela et du Brésil dans l'Atlantique Ouest ; dans l'Atlantique Est, il est présent depuis les îles Lofoten au large de la Norvège jusqu'aux îles Canaries et jusqu'à la mer Méditerranée. Il y a aussi une population au large de l'Afrique du Sud. La sous-espèce du Pacifique est connue depuis le golfe d'Alaska jusqu'au sud de la Californie et en Basse Californie dans le Pacifique oriental ; dans l'ouest du Pacifique, il est présent dans l'île Sakhalin, dans la mer du sud d'Okhotsk, au sud du nord des Philippines (Fig.4) (FAO Species Catalogue, 1983).

Il existe deux stocks bien distincts de thons rouges qui se différencient par leur maturité sexuelle propre et par leur zone de reproduction :

- le stock Est, à maturité précoce, se reproduit en Méditerranée orientale,
- le stock Ouest, à maturité plus tardive, se reproduit dans le golfe du Mexique.



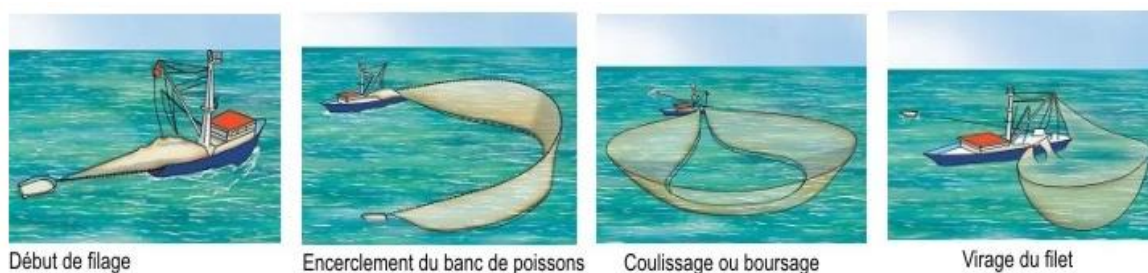
**Figure 4.** Zone de répartition du thon rouge de l'Atlantique.

C'est l'espèce de thonidés qui possède la plus grande aire de répartition et le seul poisson pélagique qui vit en permanence dans les eaux tempérées de l'Atlantique ; il peut supporter des températures froides (jusqu'à 3 °C) et chaudes (jusqu'à 30 °C), tout en maintenant stable la température interne du corps (Mather et Jones, 1995 ; Block et *al.*, 2001 ; Collette, 2001 ; Fromentin et Powers, 2005). Les thons rouges (juvéniles et adultes) plongent souvent à des profondeurs de 500 à 1 000 m (Brill et *al.*, 2001). On a constaté un comportement semblable chez le thon rouge du Sud, le thon obèse et l'espadon, qui est généralement associé à la recherche de nourriture dans des couches dispersantes profondes et/ou à des contraintes physiologiques visant à refroidir la température corporelle (Musyl et *al.*, 2003). C'est pour cette raison que l'habitat du thon rouge, comme celui des autres thonidés et des istiophoridés, doit être décrit en trois dimensions (Inagake et *al.*, 2001). Des travaux récents semblent converger vers le fait que le thon rouge (juvénile et adulte) fréquente et se regroupe le long des fronts océaniques (Royer et *al.*, 2004). Il est probable que cette association est également liée à la recherche de nourriture, le thon rouge s'alimentant dans les abondantes concentrations de proies vertébrées et invertébrées qui peuplent ces zones (Block et *al.*, 2005). Les types de fronts océaniques connus pour être souvent visités par le thon rouge sont les zones de remontée d'eau, comme les côtes occidentales du Maroc et du Portugal, et les structures océanographiques à méso-échelle associées à la circulation générale de l'Atlantique Nord et des mers adjacentes (Boustany et *al.*, 2001 ; Wilson et *al.*, 2005). Il semble néanmoins que l'habitat du thon rouge soit plus complexe que ce que pourrait expliquer ces seules caractéristiques océaniques et qu'il reste encore beaucoup de choses à apprendre à ce sujet (Royer et *al.*, 2004).

### **1.2.1.2 Le thon rouge et son exploitation**

Dans la pêcherie méditerranéenne du thon rouge, l'essentiel de ces poissons sont capturés par des navires à senne coulissante qui utilisent un grand filet pour encercler des bancs entiers de thon rouge et les remorquer vers des élevages où ils sont engraisés avant d'être abattus. En Méditerranée, la pêche au thon rouge est sous haute surveillance ; Les quotas autorisés dans la pêche au thon ont été augmentés cette année dont 2 000 t pour la Méditerranée. D'après le ministère de l'Agriculture, du développement rural et de la pêche, le quota de pêche de thon rouge de l'Algérie pour 2017 a été porté à 1 046 t, alors qu'il avait été fixé initialement à 546 t par la commission internationale pour la conservation des thonidés de l'Atlantique (CICTA). Alors qu'en 2018, une augmentation de 11% a été signalée par les services de MPRH, et elle devra augmenter en 2019 pour atteindre 1 400 t puis 1 600 en 2020.

Les thons grands migrateurs, et les espèces apparentées, représentent 20% de la valeur marchande de toutes les pêches de capture marines et plus de 8 % de la production mondiale de produits de mer. 80 % des captures de thon rouge de l'Atlantique se font en mer Méditerranée. Les engins traditionnels de pêche [madrague, ligne (canne et palangre), filet maillant (thonaille, aujourd'hui interdite)] ont été remplacés par une technique plus productive, la senne, qui assure aujourd'hui la grande majorité des captures (Fig.5).



**Figure 5.** Technique de pêche par senne (source Ifremer, 2012)

### I.2.2 Généralités sur la crevette rouge *Aristeus antennatus* (Risso, 1816)

La crevette *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) (Fig. 6) (Crustacea, Decapoda) est répartie dans la mer Méditerranée, les eaux de l'est de l'Atlantique adjacentes au détroit de Gibraltar et à l'océan Indien (Fernández et *al.*, 2013) et a été enregistrée sur la côte brésilienne (Serejo et *al.*, 2007). L'espèce habite les fonds boueux du talus continental le long de canyons sous-marins, allant de 80 à 3 300 m de profondeur, ce qui en fait l'espèce la plus eurybathique de la mer Méditerranée, et présente une structure démographique complexe dans la colonne d'eau (Sardà et *al.*, 2010). Les populations des eaux moins profondes (<1 000 m de profondeur) exploitées par la pêche commerciale sont principalement composées de femelles de grande taille et matures, avec une proportion faible mais significative de mâles qui retournent dans des zones plus profondes après l'accouplement, principalement en été. Les populations d'eaux profondes (> 1 000 m de profondeur), qui ne sont pas pêchées, ont une abondance et une biomasse moindres et sont principalement composées de mâles et de juvéniles (Sardà et *al.*, 2010). Exploitée depuis les années 50, la capture mondiale a augmenté chaque année pour atteindre 1 851 tonnes en 2013 (FAO, 2015). Plusieurs recherches ont permis de détecter quatre stocks génétiques de la crevette rouge : la Méditerranée occidentale, la Méditerranée orientale, l'océan Atlantique et l'océan Indien (Fernández et *al.*, 2011; Marra et *al.*, 2015).

### **I.2.2.1 Production des crevettes**

Selon les dernières données de la FAO (Statistiques des pêches et de l'aquaculture 2014), la production mondiale de crevettes se situe autour de 8,2 Mt et inclut une majorité de crevettes d'aquaculture (soit environ 4,8% de production mondiale de poissons).

L'évolution des quantités mondiales de crevettes d'aquaculture est due :

- ✓ D'abord à la Chine, qui a développé la première production mondiale de crevettes entre 2000 et 2010, et qui plafonne aujourd'hui,
- ✓ Ensuite à l'Asie du Sud-Est et notamment à l'Indonésie, à la Thaïlande, au Vietnam et au Bangladesh, puis à l'Amérique Centrale et du Sud, et particulièrement à l'Équateur, qui a connu depuis 1999 un développement puissant et régulier,
- ✓ Enfin, à l'Inde dont la production décolle depuis 2010.

Concernant la pêche, la production mondiale de crevettes représente environ 3,6 Mt ; elle est réalisée principalement par la Chine (environ 1,3 Mt, destinées pour la grande majorité à la consommation locale), l'Inde (environ 438 500 t), l'Indonésie, le Canada, les USA, le Groenland et le Vietnam (de 220 000 t à 425 000 t par pays). Les volumes globaux pêchés sont stabilisés depuis plus de dix ans (FAO Globefish Highlights, 2016).

La production mondiale de crevettes tropicales d'élevage pourrait dépasser les 3,5 millions de tonnes cette année. Un record vraisemblablement, vu les productions croissantes annoncées en Inde, en Thaïlande, au Vietnam, en Amérique latine et étant donné la reprise de la Chine et de l'Indonésie. Grâce à l'ouverture de nouvelles zones de production, l'Inde devrait dépasser les 700 000 t et son expansion se poursuivre. De son côté, l'Équateur renforce sa croissance par des gains de productivité. La pression à l'achat de la Chine pousse la crevetticulture équatorienne dans ce sens. Tendence identique au Vietnam, devenue parallèlement à la crevetticulture une véritable « usine » de transformation de crevettes importées puis réexportées sur le marché chinois. En comptant sa propre production et les importations, le Vietnam atteindrait 470 000 t (FAO Globefish Highlights, 2016).

Les crevettes représentent à elles seules plus de 30.000 espèces identifiées dans les mers et les océans. Les crevettes sont colorées, généralement trouvées par paires ou en de large groupement. Grâce à un phénomène de mue, elles rejettent sa vieille cuticule (exuvie) et acquièrent une nouvelle, ce qui leur permettrait de pouvoir croître de taille. Lors de chaque mue, l'animal pourra régénérer chaque membre perdu ou sectionné, et gonfler son corps au maximum afin de créer une nouvelle carapace plus grande que l'ancienne (Fig.6).



**Figure 6.** Aspect général d'*Aristeus antennatus* (Risso, 1816).

- **Systématique et Classification**

La crevette *Aristeus antennatus* fut décrite pour la première fois par Risso en 1816, et nommée *Peneus antennatus*, comprise dans la famille des Penaeidae (Rafinesque, 1815) et tient actuellement la position taxonomique décrite ci-dessus proposée par Bowman et Abeelen 1982 et conduit à la taxonomie suivante :

**Embranchement :** Arthropodes

**Classe :** Crustacés

**Sous Classe :** Malacostracés

**Ordre :** Décapodes

**Famille :** Aristeidaes

**Genre :** *Aristeus*

**Espèce :** *Antennatus* (Risso, 1816)

- **Synonymes**

*Sycionia duvernoii* (Risso, 1844).

- **Noms d'après FAO**

Blue and red shrimp (Anglais), Crevette rouge (français), Gamba rosada (Espagne), Gambaru de fundu (Monaco), Gambero rosso chiaro (Italie), Gámbo rossu-ciâeo (Gênes), Ammiru cani (Sicile), Gambli rossi (Malte), Gamba rosada (nom officiel espagnol), Chorizo blanco, Gamba alistada, Carabinero (Espagne).....

- **Scientific Name :** *Peneus 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. En 2006, 83% de la capture de crevettes sont représentés par seulement 6 espèces (Gillett, 2008).

### I.2.2.2 Distribution géographique de crevette *Aristeus antennatus*

La répartition géographique de cette espèce, comprend tout le bassin méditerranéen et les côtes atlantiques (fig.7). Elle fréquente les fonds de vases, de sables exploités essentiellement par les chalutiers (Grimes et al ; 2004).

*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).

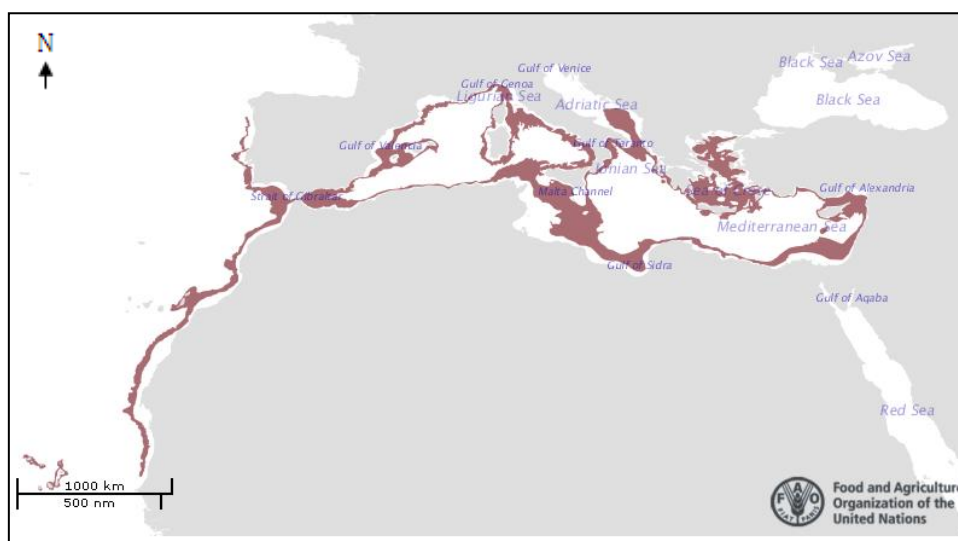
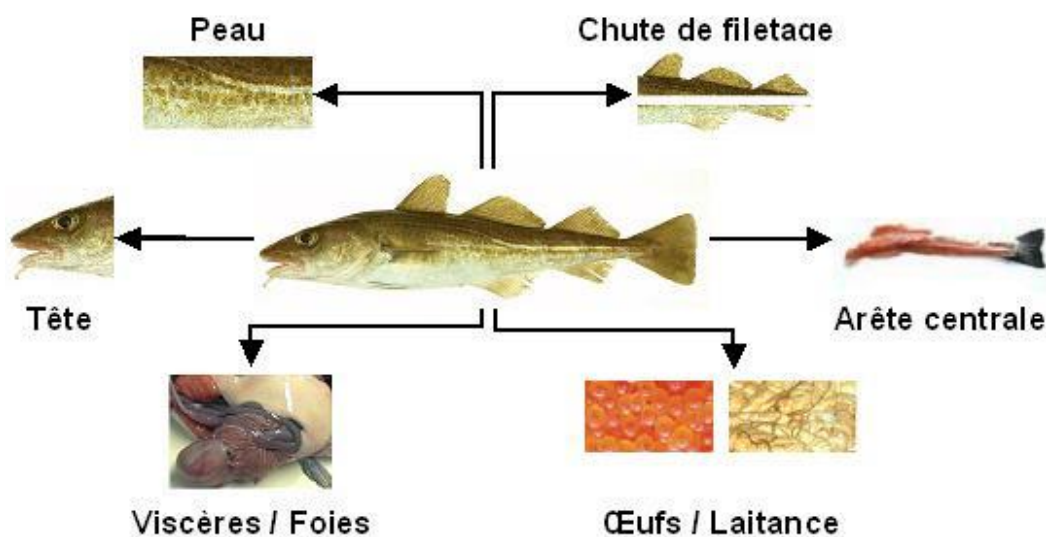


Figure 7. Répartition géographique d'*Aristeus antennatus*.

### I.3 VALORISATION DES COPRODUIT DE LA MER

Les co-produits sont définis comme les parties non utilisées et récupérables lors des opérations traditionnelles de production, ils constituent 30 à 60% des produits entiers. Il existe trois grands types de producteurs de co-produits : Les mareyeurs, les saleurs - saurisseurs et les conserveurs (Dumay, 2004 ; Shahidi, 2006). Compte tenu de l'importance des co-produits, de nombreux efforts ont été réalisés pour les utiliser dans diverses applications: l'alimentation animale ou humaine, la diététique, la nutraceutique, la pharmaceutique, le cosmétique et d'autres applications. A partir d'un même type de coproduit (tête, viscères, arêtes, peau) il est possible d'obtenir différents produits dérivés (Fig.8).

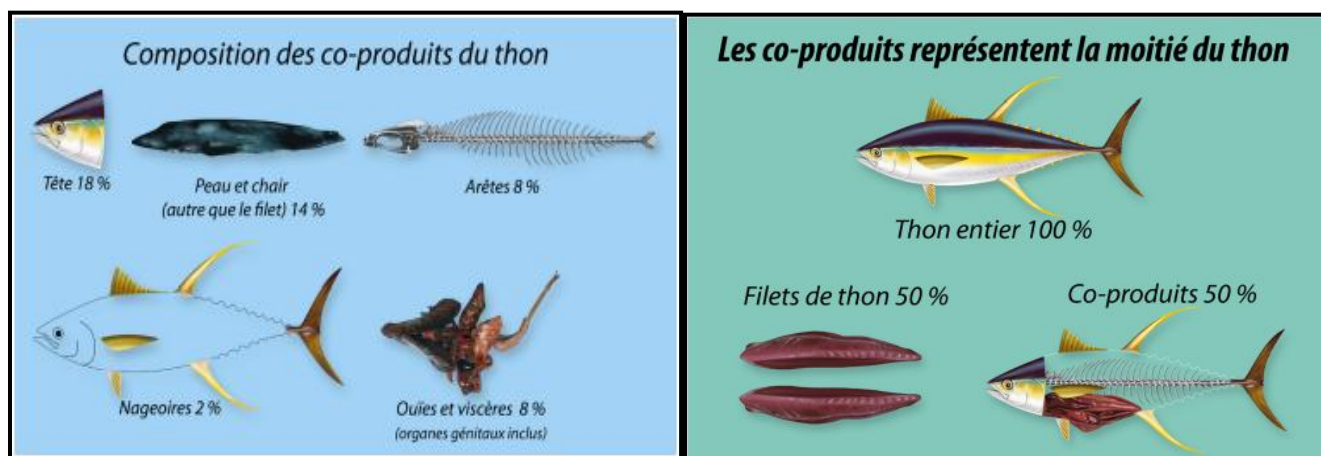
En effet, ces matières renferment de nombreuses molécules valorisables notamment des protéines (Heux et *al.*, 2003), lipides (Dumay et *al.*, 2006 ; Dumay, 2006), minéraux, vitamines (Heux et *al.*, 2003), ainsi que d'autres composés bioactifs (Kim et *al.*, 2008), bénéfiques à la santé humaine et animale. La Figure 10 présente les principales voies de valorisation des co-produits du poisson.



**Figure 8.** Principaux co-produits issus d'un poisson (Ifremer, 2010).

Pendant la transformation du poisson pour la consommation humaine, des co-produits incluant les têtes, les viscères, la chute de parage (filetage), la peau, l'écaille, les arêtes et les queues sont générés (Fig. 8 et 9). Selon les espèces, essentiellement pour les espèces de taille importante, les foies peuvent être séparés des viscères. Dans un contexte de développement durable mais aussi et surtout dans un souci de rentabilité économique, ces co-produits font

depuis plusieurs années l'objet de l'attention des industriels qui aimeraient en tirer bénéfices. (Dumay, 2004, Shahidi, 2006).



**Figure 9.** Schéma illustrant la composition des co-produits de thon, exprimée en pourcentage du poids (CPS, 2014).

### I.3.1 Utilisation des co-produits de poisson

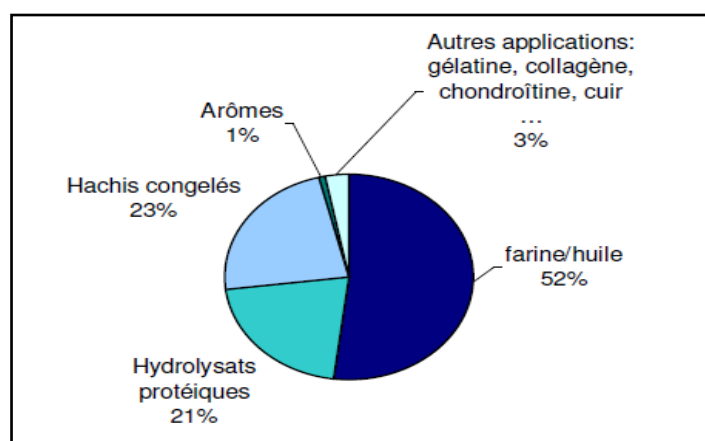
Les sociétés qui génèrent de grandes quantités de co-produits ont généralement recours à l'un des procédés de traitement suivant : la vente sur les marchés locaux de ces co-produits qui constituent une source de protéines à bas coût, la transformation en produits à faible valeur marchande telle que la farine de poisson, ou la simple élimination du produit. La mise en place de technologies simples et à petite échelle permettrait de transformer les faibles quantités de co-produits générés par la pêche artisanale et les ménages, notamment en engrais. Le tableau 2 présente certains des marchés de valorisation possibles.

### I.3.2 Importance et valorisation des co-produits

La production annuelle de co-produits représente environ 50% des captures. Les coproduit contiennent des protéines à haut valeur nutritive, des acides gras insaturés (Oméga3). Des vitamines, des antioxydants des minéraux, ainsi que des acides aminés essentiels et des peptides bénéfiques pour l'organisme. Il est intéressant d'accroître la valeur ajoutée des coproduit, pour assurer une pêche durable et améliorer la rentabilité des activités de la filière par une meilleure valorisation des captures. Les co-produits peuvent être utilisés sous différentes formes : farine et huile de poisson, hydrolysats protéiques ou même isolats protéiques, etc...(Nguyen, 2009) (fig. 10).

**Tableau 2.** Utilisation potentielle des co-produits de poissons.

| Marchés de Valorisation              | Produits dérivés   | Utilisation   |
|--------------------------------------|--|---|
| Agriculture                          | Engrais (ensilage), compost, pesticide   | – Enrichissement des sols<br>– Lutte contre les ravageurs |
| Énergie                              | Biocarburant, comburant  | – Production d'énergie                                    |
| Alimentation Animale                 | Farines, huiles, dérivés protéinés, ensilage, minéraux   | – Alimentation<br>– Compléments alimentaires              |
| Nutrition (compléments alimentaires) | Huiles, dérivés protéinés, minéraux, acides aminés   | – Compléments alimentaires<br>– Nutrition sportive        |
| Alimentation Humaine                 | Utilisation entière ou partielle du poisson, hachis, pulpe alimentaire, gélatine, bouillon et sauce à base de poisson, huile de foie | – Produits non transformés<br>– Produits transformés      |
| Industrie Pharmaceutique             | Oméga 3, calcium, sulfate de chondroïtine, collagène, peptides bioactifs   | – Nutraceutique<br>– Cosmétique<br>– Biotechnologie       |



**Figure 10.** Proportions des différentes voies de valorisation des co-produits d'origine marine (Andrieux, 2004).

La qualité des co-produits varie en fonction de la saison et des espèces débarquées, ce qui rend difficile la standardisation des procédés. De plus, des contraintes réglementaires viennent s'ajouter à ces contraintes technico-économiques. Enfin, la prise de conscience du fait que les co-produits, pour être valorisés, doivent être traités comme des matières nobles est encore à l'heure actuelle très faible (Andrieux, 2004).

### **I.3.3 Les voies de valorisation des co-produits marins**

Le produit dérivé est le produit commercial obtenu à partir d'un coproduit. Un coproduit pourra donner plusieurs produits dérivés. Ainsi, la tête d'un poisson pourra être valorisée en tant que farine, huile ou destinée à l'alimentation, les viscères peuvent donner des farines et de l'huile, mais aussi des vitamines, la peau pourra être transformée en farine, en cuir ou en gélatine (Guérard *et al.*, 2004). Ces produits sont qualifiés de produits dérivés et non de produits finis car ils sont généralement commercialisés sous forme d'ingrédients, c'est-à-dire sous forme de produits intermédiaires pour la nutrition humaine (Jridi *et al.*, 2015), l'alimentation animale (Péron, Mittaine et Le Gallic, 2010), la diététique, la cosmétique. Néanmoins, certains co-produits (foies, œufs) peuvent être vendus à l'état brut aux consommateurs, mais cette tendance est faible. Leur utilisation par les industries de conserverie et de saurisserie est plus commune (Andrieux - 2004).

Quatre catégories de produits dérivés peuvent-être distinguées en fonction de leur destination:

- ✓ L'utilisation en nutrition humaine ou alimentation animale ;
- ✓ L'utilisation en diététique ou nutraceutique ;
- ✓ L'utilisation en cosmétique ;
- ✓ L'utilisation plus restreinte et spécifique d'un seul type de produit dérivé.

#### **I.3.3.1 La farine et l'huile de poisson**

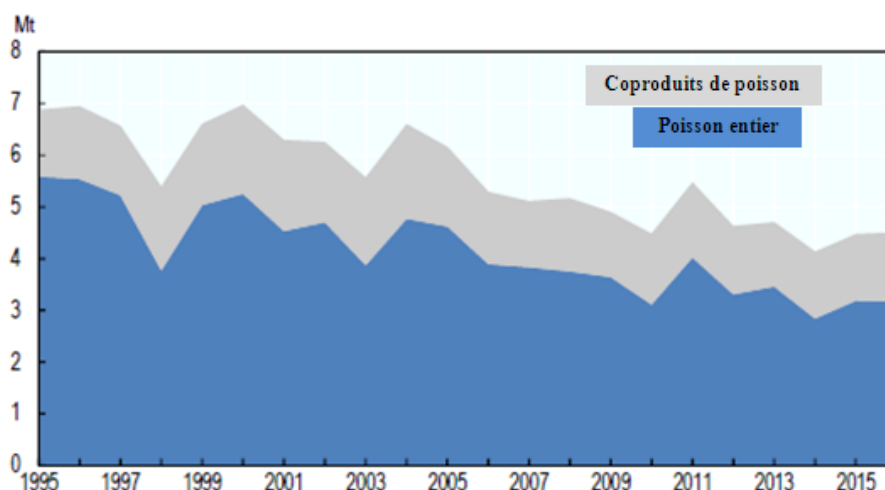
En général, la production de farine et d'huile de poisson (Fig. 11) pour la nutrition animale est actuellement la valorisation de masse des co-produits la plus importante car tous peuvent être utilisés sans distinction. Ainsi, en 2006, environ 20,2 millions de tonnes de poisson et de co-produits ont été transformés en farines (FAO, 2008). En 2008, 2,6 millions de tonnes de farine ont ainsi été commercialisés avec près de 25% des matières utilisées qui étaient des co-produits issus de l'industrie de transformation du poisson. Les principaux pays producteurs de farine et d'huile de poisson sont le Pérou, le Chili, le Danemark et la Norvège (FAO, 2018).



**Figure 11.** La farine de poisson et sa liqueur d'huile (Mickaël, Pêcher Malin, 2016).

La production mondiale de la farine de poisson est estimée à 6 millions de tonnes. La farine de poisson est la première source de protéine utilisée pour l'alimentation des animaux d'élevage en raison de ses hautes qualités nutritives. Une partie importante de ces farines est utilisée pour faire des aliments pour l'aquaculture de poissons et de crevettes. L'autre partie est utilisée pour l'alimentation des poulets et des porcs. Les farines contiennent en général de 65 à 67% de protéines et un maximum de 12% de lipides. Elles possèdent de bonnes valeurs nutritives et une grande teneur en acides aminés essentiels mais sont peu solubles, possèdent peu de propriétés fonctionnelles et peuvent causer des inconvénients liés à leur forte teneur en sels minéraux (Denes, 2006).

D'une manière générale, les farines et les huiles de poissons sont préparées à partir d'espèces de peu de valeur (anchois, sardine, hareng,...), mais en raison de la diminution de quantités disponibles de telles espèces, les entreprises se tournent vers d'autres sources de matières premières telles que les co-produits (Johnson, 2002). Toutes les parties peuvent être utilisées sans distinction. Des études ont montré que les farines issues de co-produits de poissons sont aussi efficaces que celles issues de poissons entiers pour l'élevage de crevettes (Sudaryono et *al.*, 1996) de morue (Tibbets et *al.*, 2006) de tambour rouge (Li et *al.*, 2004) Salmonidés (saumon et truite) (Johnson, 2002 ; Archer et Russell, 2007) de dorade (Laining et *al.*, 2003). Entre 2015 et 2016, la farine de poisson fabriquée avec du poisson complet est estimée à 68% par contre la farine de poisson fabriquée par des sous-produits (32 %) (Fig. 12).



**Figure 12.** Production mondiale de la farine de poisson selon la source. (FAO, 2016)

Tandis que, la figure 13, illustre les différentes utilisations mondiales de farine de poisson en 2002. La quantité de protéines dépend des parties de poissons utilisées dans sa fabrication, entre 58 et 70 % selon les types de farine: type 62 (58 à 63 %) ; 65 (63 à 68 %) ; 70 (68 à 70 %). La qualité tient compte aussi de la digestibilité de l'azote (dN 88 à 90 %) et du phosphore (dP 38 à 51 %) (Sauvant et al, 2004).

L'huile de poisson connue pour sa richesse en oméga 3 est en général obtenue à partir des tissus biologiques de poissons gras. La production mondiale des huiles de poisson est estimée à 896 000 tonnes. Parmi les poissons choisis, on trouve des poissons sauvages ou d'élevage. On trouve dans les poissons sauvages une huile d'excellente qualité. Parmi ces poissons, on trouve le plus souvent le hareng, la sardine, le maquereau, la daurade, l'espadon, etc. Parmi les poissons d'élevage, en général le saumon ou la morue, l'huile est souvent de moindre qualité et peut contenir des métaux lourds. Toutes les huiles obtenus par ces poissons ne se valent pas et leurs teneurs en oméga 3 non plus.

Les principaux usages de l'huile de poisson sont les suivants:

- ✓ Alimentation humaine
- ✓ Industrie pharmaceutique
- ✓ Alimentation des animaux d'élevage
- ✓ Alimentation des animaux de compagnie
- ✓ Aquaculture

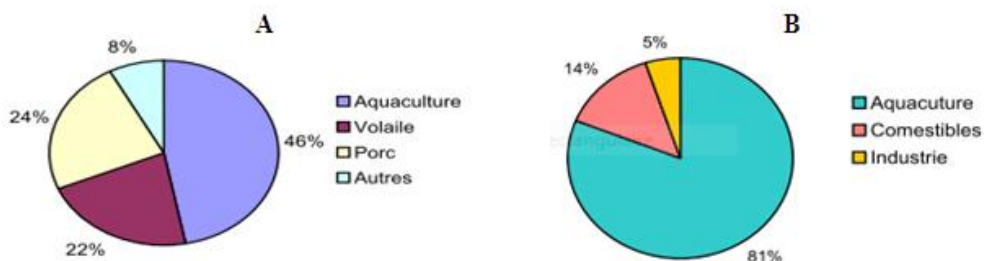


Figure 13. L'utilisation mondiale de farine (A) et d'huile de poisson (B) (Schippe, 2008)

### I.3.3.1.1 Fabrication de farine et de l'huile de poisson

La fabrication de farine et d'huile de poisson se fait par simple broyage de la matière première des co-produits secs, il obtient une farine de poisson contenant en moyenne 50% de matière protéique et de 16 à 18% de graisse. Pour ensuite, la plus grande partie de l'huile et des farines sont produites industriellement par la méthode de pressage humide (Archer et Russell, 2007). Les principales étapes de ce processus sont décrites en figure ci-dessous (Fig.14).

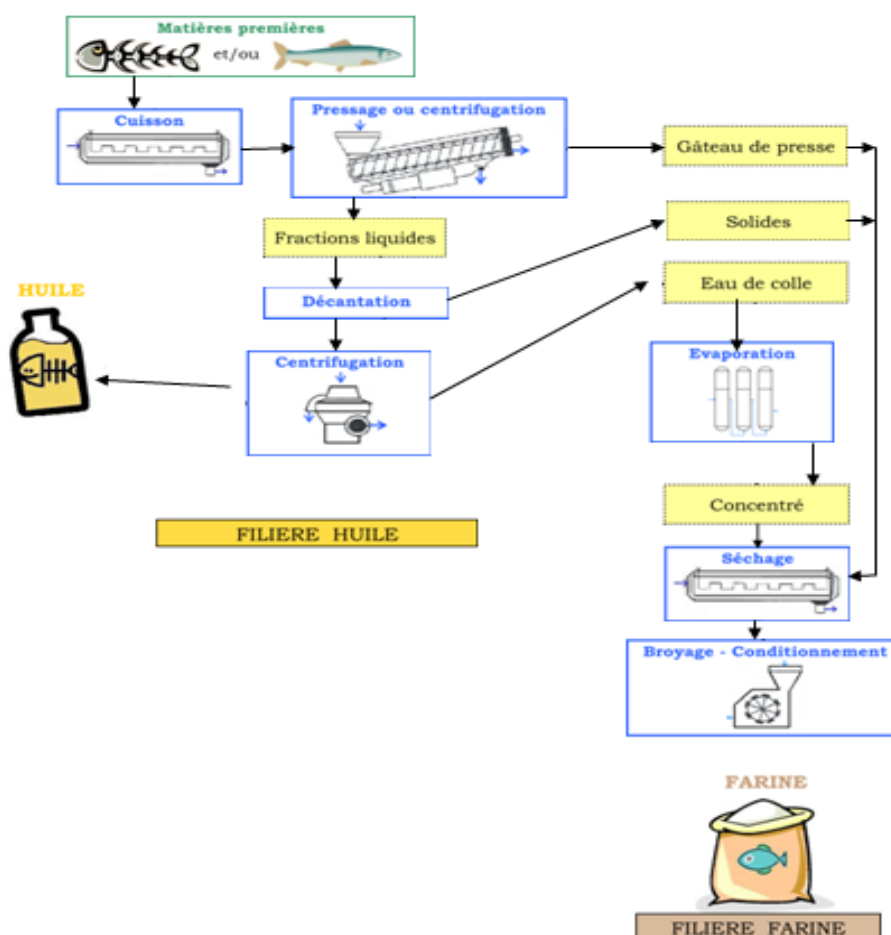


Figure 14. Schéma de fabrication de la farine et huile de poisson (Perez Galvez, 2009)

### **I.3.3.2 Les Hydrolysats**

A l'heure actuelle, des quantités considérables de matériel protéique sont perdues par les industries de transformation du poisson qui ne valorisent guère leurs co-produits ou déchets. Les hydrolysats sont le résultat de la digestion partielle des protéines par hydrolyse protéolytique de poissons entiers ou de co-produits. L'hydrolyse des protéines est donc une des voies privilégiées de la valorisation de ces co-produits mais pour cela il convient d'adopter une stratégie de récupération de ces protéines présentes afin de pouvoir les utiliser ultérieurement en nutrition humaine ou animale. Les hydrolysats sont des fractions à teneur protéique élevée obtenues soit par autolyse (uniquement sous l'action d'enzymes endogènes) soit par hétérolyse (avec addition d'enzymes exogènes). Une fois séchés, ces hydrolysats ont un aspect identique à celui des farines (Dumay, 2006 ; Nguyen, 2009). L'hydrolyse est l'une des techniques les plus efficaces utilisées pour produire des peptides bioactifs (Abdelhedi, 2016).

#### **I.3.3.2.1 L'Autolysats**

Les autolysats sont obtenus principalement par l'action des enzymes protéolytiques endogènes du poisson, présentes dans le système digestif (pepsine, trypsine, chymotrypsine) ainsi que dans le tissu musculaire (cathepsines). Les autolysats produits par fermentation, est une technique utilisée depuis des siècles, pour la conservation des poissons. Elle est réalisée en ajoutant du sucre ou du sel pour prévenir la prolifération microbienne. Les autolysats sont généralement liquides, riches en acides aminés libres et en petits peptides (Apria, 1979).

Les bactéries naturellement présentes dans le mélange d'autolyse participent également à cette protéolyse. Les autolysats sont généralement liquides, assez visqueux, riches en acides aminés libres et en petits peptides. Ils constituent une nourriture idéale pour l'alimentation animale (Ravallec-Plé, 2000 ; Johnson, 2002 ; Lian et *al.*, 2005 ; Tsai et *al.*, 2006). La vitesse de l'autolyse est alors très lente, la durée des procédés est au minimum de 6 mois (Roy et Durand, 1997).

#### **I.3.3.2.2 L'Hydrolyse chimique**

L'hydrolyse chimique est la plus ancienne et peut être conduite en milieu acide (HCl ou H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) ou en milieu alcalin (NaOH) dans des hautes températures de l'ordre de 100°C et des fortes concentrations de soude ou d'acide. La production du chlorure de sodium pendant l'hydrolyse acide, contribue à la conservation du produit. Cependant, cette hydrolyse à

l'inconvénient de décomposer partiellement certains acides aminés et de détruire complètement le tryptophane. Alors que, l'hydrolyse alcaline provoque la destruction de la cystéine, la cystine, l'arginine et la méthionine. Il sera donc nécessaire de compléter l'hydrolysats chimique par des acides aminés (Nguyen, 2009).

#### **I.3.3.2.3 L'Hydrolyse enzymatique**

L'hydrolyse enzymatique présente l'avantage d'être plus facilement contrôlable que l'hydrolyse chimique. Elle permet également de préserver la valeur nutritionnelle de la matière première et conduit à la génération et la libération de produits qui possèdent des intérêts nutritionnels, fonctionnels ou biologiques (Nguyen, 2009). Le tableau 1 de l'Annexe II, présente les différentes protéases ou complexes enzymatiques utilisées, la nature des matières premières et l'utilisation des hydrolysats de co-produits de poisson (Liaset et al. 2000).

#### **I.3.3.2.4 Les isolats de protéines légèrement modifiées par hydrolyse**

Ces isolats sont obtenus en effectuant une hydrolyse modérée des protéines (solubilisation de l'azote inférieure à 10%) avant le traitement d'extraction. La modification des protéines par hydrolyse soulève un certain nombre de problèmes. En premier lieu, il est difficile de fabriquer des produits neutres car diverses molécules produites par hydrolyse présentent elles-mêmes une certaine valeur. D'autre part, dans le cas d'une hydrolyse enzymatique, on se heurte à la difficulté de contrôler avec précision le degré d'hydrolyse, particulièrement si on diminue la qualité nutritionnelle par destruction de certains acides aminés et racémisation. Dans ce cas il faut également envisager l'élimination du sel produit après neutralisation de l'hydrolysats (Tannenbaum et al., 1970).

#### **I.3.4 Valorisation des co-produits de la mer**

Pour les co-produits de la mer, les autolysats sont également aptes pour l'utilisation en alimentation humaine et animale (Bueno-Solano et al., 2009). Ainsi, les sauces produites par autolyse présentent une qualité élevée avec 35% d'acides aminés de plus que les sauces de poissons commerciales (Kim et al., 2003). L'autolysats des têtes de poisson, de fait de sa teneur élevée en protéines et en acides aminés libres, peut être utilisé comme additif dans les aliments pour améliorer leur valeur nutritionnelle (Cao et al., 2008; Cao et al., 2009). Des études ont montré également des fonctions antioxydantes d'autolysats de co-produits de

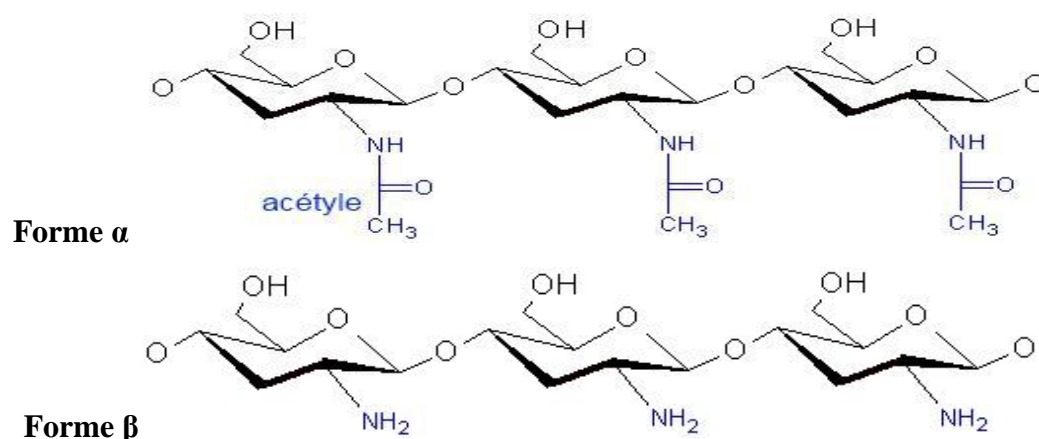
crevette par exemple (Peralta *et al.*, 2008) et leur capacité à améliorer la tendreté de la viande (Kim *et al.*, 2005).

En alimentation animale, la pâte de poisson fermentée s'obtient par l'acidification des déchets de poisson grâce à l'ajout d'un acide organique, tel que l'acide formique. La pâte de poisson et de crevettes fermentée est très nutritive et est employée en général comme complément protéique pour les porcs, la volaille et l'aquaculture (Johnson, 2002). Elle est constituée de poissons autolysés notamment grâce à l'action des enzymes digestives des viscères. En vue de valoriser les co-produits de la mer, l'hydrolyse par addition d'enzyme exogène a été étudiée. Les hétérolysats trouvent leur application en alimentation, nutraceutique, pharmaceutique. De par le contenu en composés aux caractéristiques précises, les co-produits de la mer peuvent servir à la production de produits de haute valeur marchande. Ces produits dérivés trouvent leur application essentiellement en diététique, nutraceutique, pharmaceutique et en cosmétique (Johnson, 2002).

#### **I.3.4.1 la chitine**

La chitine est un polysaccharide constitué presque entièrement d'unités de répétition D-glucosamine et N-acétyl D-glucosamine liées par des ponts  $\beta$  (1-4). Conséquemment, la chitine peut être considérée comme un dérivé de la cellulose dans lequel le groupe C-2 hydroxyle a été remplacé par les résidus d'acétamide. Ce polysaccharide est trouvé en énorme quantité dans l'environnement (Freepons, 1989) (Fig.15).

Entre 30 et 50 % de l'enveloppe rigide extérieure des arthropodes (arachnides, crustacées, insectes) est composée de chitine. On retrouve également la chitine dans la paroi de plusieurs champignons, algues chlorophycées, et dans certaines bactéries (Bordenave, 2009). La nature hydrophobe de la chitine la rend insoluble dans l'eau, aussi bien que dans la plupart des solvants organiques. Généralement le degré d'acétylation (DA) de la chitine est d'environ 90%. Selon les études de Roberts (1992), Shahidi *et al* (1999), Pernet-Poil-Chevrier (2009), Randriamahatody (2011), Lemonde *et al* (2011), la chitine est le biopolymère le plus abondant dans la nature après la cellulose.



**Figure 15.** Structure chimique de la chitine (forme α et β).

Bien que les sources potentielles de chitine soient très nombreuses (Tab.3), 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 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 30-40% de protéines, 30-50% de carbonate de calcium, et 20-30% de chitine par rapport au poids sec (Percot et *al.*, 2002).

**Tableau 3.** Variabilité de la teneur de la chitine chez quelques organismes. (Mathur et Narang, 1990 ; Shahidi, 2002).

| Source                     | Teneur en chitine (en % mat sec) | Source                              | Teneur en chitine (en % mat sec) |
|----------------------------|----------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------|
| Arthropodes                | 2 à 72                           | Crabes <i>Chionoectes opilio</i>    | 26,6                             |
| Mollusques                 | 6 à 40                           | Crevettes <i>Pandallus borealis</i> | 17,0                             |
| Ponophores                 | 33                               | Crevettes <i>Cangron cangron</i>    | 33                               |
| Cnidaires (capsules oeufs) | 3 à 30                           | Crevettes <i>Penaeus monodon</i>    | 3 à 30                           |
| Annélides                  | 0,2 à 38                         | Champignons                         | 2,9 à 20,1                       |
| Brachiopodes               | 4 à 29                           | Algues/ Lichen                      | Faible                           |

### **I.3.4.1.1 Les propriétés de la chitine**

Parmi les dérivés de la chitine, on retrouve principalement le chitosane, la forme désacétylée de la chitine, qui a attiré l'attention de plusieurs chercheurs et industriels depuis une trentaine d'année à cause de ses propriétés physicochimiques et biologiques (Mathur and Narang 1990; Li et *al.*, 1992; Percot et *al.*, 2003; Kurita, 2006).

La chitine est fortement hydrophobe et insoluble dans l'eau et dans la plupart des solvants organiques (Di-Mario et *al.*, 2008). C'est un polysaccharide azoté, basique, cationique, de couleur blanchâtre et non toxique (Majeti, 2000; Morimoto et *al.*, 2002; Mrunal, 2004). Elle est caractérisée par le degré de N-acétylation, le degré de substitution, le poids moléculaire et la solubilité (Majeti, 2000).

- **Degré de N-acétylation**

Le degré d'acétylation (DA) est un paramètre fondamental qui influence les propriétés des biopolymères 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 biopolymère ayant un groupement N-acétyle. 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. On parlera de chitine lorsque le degré d'acétylation est supérieur à 70% (Morimoto et *al.*, 2002).

- **Solubilité de la chitine**

Malgré la similarité structurale, la chitine est insoluble dans les solvants usuellement utilisés pour la cellulose (solutions aqueuses d'hydroxyde de cuprammonium, de cupriethylenediamine et de cadoxen). Quelques autres systèmes de solvants exotiques, furent ainsi mis en place afin de contourner cette situation. On peut regrouper ces systèmes en trois catégories : les solutions aqueuses de sels neutres, les solvants acides, et les solvants organiques neutres.

La chitine est biodégradable, elle est hydrolysée par une série d'enzymes telles les chitinases, le lysozyme et les glucanases (Pernet, 2009).

- **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 (Majtána et *al.*, 2007).

### **I.3.4.1.2 Procédé d'extraction de la chitine**

#### **I.3.4.1.2.1 La production de chitine par voie chimique**

L'extraction chimique consiste en un traitement acide pour la déminéralisation et un traitement alcalin pour la déprotéinisation. Les autres composés minoritaires sont supposés être entraînés au cours de ces deux réactions (Rao et Stevens, 2005). Ce procédé chimique consomme de grandes quantités d'eau et de réactifs (principalement l'acide chlorhydrique, l'hydroxyde de sodium et des agents de blanchiment) (Crini et *al.*, 2009).

- **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 hydrochloridrique (HCl) est privilégié (Le Roux, 2012).

Les concentrations en HCl rencontrées sont comprises entre 0,5 et 11 N et le ratio entre 1:10 et 1:40 (g/v). La déminéralisation dure entre 15 min et 48 h, de la température ambiante à 50°C (Tolaimate et *al.*, 2003 ; Al Sagheer et *al.*, 2009).

Il faut prendre garde à la production de mousse, causée par le 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).

- **La déprotéinisation**

A l'état naturel, la chitine se présente en association avec les protéines (Chitinoprotéine) (Chaucheyras-Durand et *al.*, 2010). Un traitement basique permet d'éliminer les protéines par solubilisation. Les réactifs employés pour cette étape sont des 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 1 h à plus de 24 h (Tolaimate et *al.*, 2003 ; Al Sagheer et *al.*, 2009). Ces deux paramètres sont liés, ainsi la durée doit être augmentée si la température est baissée, et réciproquement (Le Roux, 2012). Pendant ce traitement une partie des colorants naturels sont extraits (Durand et *al.*, 2008).

- **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). Durant le processus de blanchiment, le réactif utilisé ne doit pas avoir un effet sur les propriétés physico-chimiques de la chitine et du chitosane (Bensaha, 2010). Du et *al.*, (2009) privilégient l'éthanol pour le blanchiment.

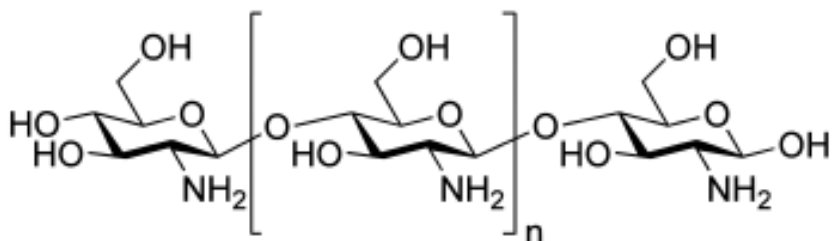
#### **I.3.4.1.2.2 Traitements biologique**

À l'inverse, un procédé biologique de purification de la chitine répondrait mieux aux enjeux actuels de développement durable. Son empreinte sur l'environnement devrait être réduite car les volumes d'effluents chargés en réactifs chimiques sont plus faibles. Ses conditions plus douces devraient préserver la qualité de la chitine. Enfin elles devraient également favoriser la valorisation des autres constituants, présents dans les co-produits de crustacés. Il s'agit notamment des peptides et des pigments. Par ces voies, les taux de protéines et minéraux résiduels sont plus importants par rapport à l'emploi de l'extraction chimique. Des traitements complémentaires sont souvent nécessaires pour améliorer le degré de pureté en chitine. Enfin, les temps de réaction sont beaucoup plus longs que par la voie chimique (Le Roux, 2012). Visuellement, l'aspect général du produit constitue également un critère d'appréciation. Le produit obtenu par hydrolyse enzymatique est plus rosé que celui obtenu par voie chimique.

#### **I.3.4.2 Le chitosane**

Le chitosane est un, copolymère linéaire  $\beta$  (1-4) de N-acétyl D-glucosamine et de Dglucosamine (Felt et *al.*, 1999 ; No et *al.*, 2003 ; klouj, 2012), obtenu par désacétylation de la chitine à partir de la carapace des crustacés (crabes, crevettes) par des processus chimiques ou microbiologiques (Tayel et *al.*, 2010) (Fig.16) . Dans la nature, le chitosane est rare et n'est présent que dans les parois d'une classe particulière de champignons, les Zygomycètes (Rhizopus, Mucor) (No et *al.*, 2002).

Le chitosane est un produit non toxique et présente une solubilité dans les acides organiques à des pH<6 tels l'acide acétique, formique, lactique, succinique et malique. Cependant, il est insoluble dans l'eau, les milieux alcalins et les solvants organiques (Rabea et *al.*, 2003).



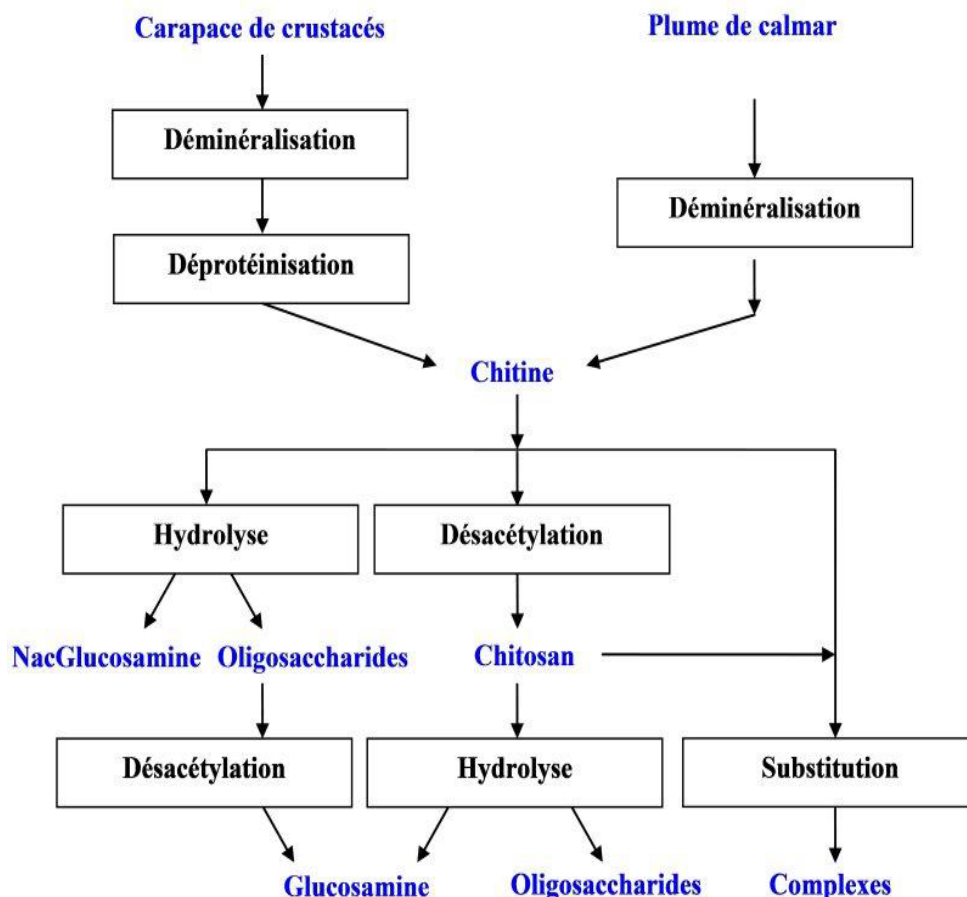
**Figure 16.** Représentation générale du chitosane (Mati Baouche, 2012).

#### I.3.4.2.1 Production de chitosane (Processus de désacétylation)

Le chitosan est obtenu par désacétylation de la chitine (No et Meyers, 1995) (Fig.17). La désacétylation est la réaction de transformation de la chitine en chitosane qui consiste à enlever suffisamment de groupes acétyle ( $\text{CH}_3\text{-CO}$ ) de la chitine pour permettre au chitosane d'être soluble dans la plupart des acides organiques dilués. Cette opération libère les groupes amines ( $\text{NH}$ ) et confère au chitosane un caractère cationique particulièrement intéressant en milieu acide.

La différence dans les méthodes de préparation du chitosane est susceptible d'influencer le degré de désacétylation, la distribution des groupements acétyl et la conformité de la structure du chitosane (Tsai et *al.*, 2002). Ceci peut engendrer des changements au niveau de la solubilité, de l'activité antimicrobienne et d'autres propriétés du chitosane (Devlieghere et *al.*, 2004). Le terme chitosane est utilisé lorsque 60 à 70% des monomères de chitine sont désacétylés (Li et *al.*, 2005) ou lorsque le produit de cette désacétylation est soluble en milieu acide dilué (Muzzarelli, 1983). La désacétylation se fait (Ifremer, 2011) :

- Par voie chimique à haute température par une base concentrée (soude par exemple).
- Par voie enzymatique avec la chitine-désacétylase



**Figure 17.** Procédé industriel de fabrication de la chitine et de ses dérivés (France Chitine)

### I.3.4.2.2 Propriétés biochimiques de chitosane et son application

#### I.3.4.2.2.1 Degré d'acétylation (DA)

La chitine et le chitosane sont principalement caractérisés par leur degré d'acétylation (DA). Le degré d'acétylation présente le taux de groupe acétylé par rapport au groupe non acétylé. De nombreuses méthodes sont proposées afin de déterminer le DA sur des échantillons solides: la spectroscopie IR (Brugnerotto et *al.*, 2001), l'analyse élémentaire (Kasaai et *al.*, 2000), ou sur des échantillons en solution: dosage UV (Maghami et Roberts, 1988), titrage colloïdal (Chen et *al.*, 1997).

La viscosité du chitosane dépend du DD de ce polymère. Plus il est désacétylé, plus il y a de groupements amines libres, plus le chitosane est soluble et par voie de conséquence sa viscosité est plus importante (Berth et *al.*, 1998 ; Amiali, 1999 ; Zemmouri, 2008). Le chitosane est typiquement insoluble dans l'eau et les solutions alcalines. Il est cependant, soluble dans les solutions minérales ou organiques diluées, excepté dans l'acide sulfurique et à un moindre degré dans l'acide phosphorique (Chenite et *al.*, 2001).

La biodégradation est assurée par des enzymes hydrolysant le chitosane en oligomères. Cependant, les mécanismes d'action ne sont pas encore clairement définis. Chez l'homme et les mammifères, ce rôle est assumé principalement par des lysozymes (Varum *et al.*, 1991). Un chitosane de DA 50% est ainsi facilement dégradé (lysozymes) dans le sang et les tissus, sans accumulation dans le corps (Onishi et Machida, 1999). La dégradation dépend de l'origine et des propriétés du polysaccharide (DA, masse molaire...) (Ratajska et Boryniec, 1998 ; Kurita, 2006). Cette influence du DA est également constatée, *in vivo* (implantation sous cutanée) (Tomihata et Ikada, 1997).

La biocompatibilité d'un polymère est d'une importance fondamentale pour son utilisation thérapeutique potentielle. Elle est caractérisée principalement par trois propriétés : sa non toxicité, sa cytocompatibilité et son hémocompatibilité. Le chitosane présente l'avantage de réunir également d'autres propriétés très intéressantes, il agit comme un bactériostatique et un fongistatique (Peh *et al.*, 2006).

Le chitosane possède un degré d'acétylation qui varie de 5 à 30%. Il peut se présenter sous forme amorphe, semi-cristalline ou cristalline. Le chitosane peut former des liaisons avec des molécules chargées négativement comme les acides gras, les acides biliaires, les phospholipides, les protéines, les polysaccharides tels que les carraghénanes, les pectines et les alginates....

#### **I.3.4.2.2 Activité antibactérienne du chitosane**

Le chitosane présente une activité antimicrobienne face aux différents groupes de microorganismes, bactéries, virus, champignons, et levures (Sagoo *et al.*, 2002 ; Chien et Chou, 2006). En général, les moisissures et les levures sont les plus sensibles au chitosane suivies des bactéries. Seule, la fraction soluble en milieu acide (pH 5,5) présente une capacité antimicrobienne, aux pH supérieures, le biopolymère est insoluble, ce qui se traduit par une perte drastique de son efficacité (Qin *et al.*, 2006).

L'activité antibactérienne du chitosane est influencée par de nombreux facteurs incluant l'origine biologique du chitosane, le pourcentage de désacétylation, le degré de polymérisation ou le poids moléculaire (PM) (No *et al.*, 2002).

De plus, le degré de l'effet antimicrobien et le mode d'action varient en fonction de l'organisme ciblé (Gram+/Gram-). La réponse du microorganisme dépend de la structure chimique du chitosane utilisée et des conditions environnementales lors de l'interaction (Cuero, 1999).

Les propriétés fonctionnelles du chitosane sont influencées par le matériel brut utilisé pour sa production et peuvent varier, aussi en fonction des espèces, mais également au sein d'une même espèce au cours de variations saisonnières. Le chitosane provenant de crustacés démontre des mécanismes antibactériens plus diversifiés que le chitosane d'origine microbienne. Plus le chitosane est désacétylé, plus son activité antimicrobienne est forte, indiquant que les groupes fonctionnels pour l'inhibition de la croissance sont les groupes aminés cationiques (Song et *al.*, 2002;). Et aussi, plus la concentration en polymères de chitosane est élevée, plus l'activité antimicrobienne est observée (Zheng et Zhu, 2003).

La littérature scientifique (Kong et *al.*, 2010 ; Eaton et *al.*, 2008 ; Rabea et *al.*, 2003 ; Chahidi et *al.*, 1999 ; Chen et *al.*, 1996) abonde pour nous donner des hypothèses sur les différentes interactions possibles entre les bactéries et le chitosane, et plus généralement sur le rôle antimicrobien de ce polymère :

- ✓ Le chitosane, de par sa nature cationique, interagirait avec la paroi cellulaire anionique des micro-organismes (interactions électrostatiques). Il adhère facilement aux cellules microbiennes puisque les amines chargées positivement agissent avec les charges négatives sur la membrane des cellules libérant ainsi les constituants intracellulaires.
- ✓ Le chitosane pourrait chélater des ions métalliques nécessaires à la croissance microbienne ou à la production de toxines.
- ✓ Le chitosane pourrait former une liaison spécifique avec les macromolécules du micro-organisme (protéines, électrolytes, ADN, etc.).
- ✓ Le chitosane interagit avec la membrane des cellules pour altérer sa perméabilité entravant ainsi l'entrée de certains nutriments.

#### **I.3.4.2.2.3 Activité antioxydant du chitosane**

L'un des principaux problèmes de l'industrie agro-alimentaire est d'assurer la conservation des aliments. Les phénomènes d'oxydation sont notamment redoutés. En effet, au niveau des lipides, les dégradations oxydantes conduisent à une perte en vitamines, une diminution de la valeur nutritionnelle (acides gras essentiels), une détérioration du goût (composés volatils à flaveur caractéristique, rancissement) et même parfois à l'apparition de substances toxiques (Pascal, 1979).

L'utilisation du chitosane comme antimicrobien, notamment dans la filière viande peut également se justifier par son pouvoir antioxydant plus récemment identifié. La viande est en effet une matrice alimentaire très sensible aux phénomènes d'oxydation qui vont toucher

principalement les acides gras insaturés et certaines protéines. Ce rancissement se traduit alors par une détérioration de la flaveur et de la couleur de la viande. Les mécanismes mis en jeu dans cette activité antioxydante du chitosane et surtout de certains de ses dérivés comme le carboxyméthyl chitosane sont encore assez mal décrits et semblent être liés d'une part au caractère cationique de ces macromolécules et d'autre part à leur pouvoir chélateur. Ainsi le carboxyméthyl chitosane en chélatant le fer libre issu des hémoprotéines libérées lors du stockage et/ou de la préparation de la viande va fortement ralentir le pouvoir catalyseur de ces ions sur le rancissement. L'action stabilisatrice des fonctions amines du chitosane sur les aldéhydes volatiles issus de la dégradation des acides gras insaturés semble également primordiale (Rao *et al.*, 2008 ; Shahidi *et al.*, 1999 ; Pérez-Mateos, 2007).

#### I.3.4.2.3 Application de la chitine et de chitosane

Les principaux produits à haute valeur ajoutée pouvant être engendrés par les co-produits de mer, ainsi que leur intérêt et leur domaine d'utilisation sont résumés dans le Tableau 6.

**Tableau 4.** Les différents produits à haute valeur ajoutée issus de co-produits de crevette et leur utilisation.

| <b>Produits</b>  | <b>Intérêt</b>  | <b>Domaine d'utilisation</b>   |
|--|---|--|
| <b>Chitine et chitosan</b>   | Bioactivité<br>Rétention d'eau<br>Chélation de métaux | Agroalimentaire, Nutraceutique,<br>Pharmaceutique, Cosmétique,<br>Agriculture, Traitement des eaux |
| <b>Astaxanthine</b>  | Bioactivité<br>Pigmentation                           | Alimentation animale, Alimentation humaine, Nutraceutique  |
| <b>Peptides</b>  | Bioactivité<br>Digestibilité élevée                   | Alimentation humaine, Alimentation animale, Nutraceutique, Milieu de culture microbienne           |
| <b>Substances aromatiques</b>                                      | Aromatisant naturel                                   | Agroalimentaire  |
| <b>Glucosamine</b>   | Nutrition   | Diététique   |
| <b>Phosphatase alcaline</b>  | Enzymatique   | Biotechnologie   |
| <b>Éléments minéraux</b>   | Nutrition   | Agroalimentaire  |
| <b>Huile riche en <math>\omega</math>3 et <math>\omega</math>6</b> | Nutrition<br>Bioactivité                              | Agroalimentaire<br>Nutraceutique   |

Le chitosane possède aussi des activités biologiques, notamment des activités antimicrobiennes (Du *et al.*, 2009), anti-inflammatoire, antioxydante (Ngo *et al.*, 2009), antitumorale (Wang *et al.*, 2008), immuno-modulatrice (Lee *et al.*, 2008), anti-ulcère (Rasmussen et Morrissey, 2008) ou encore anti-hypertensive (Kim *et al.*, 2008). Le degré d'acétylation du chitosan a un rôle crucial dans sa bioactivité : plus il est acétylé, moins il possède une bioactivité (Kim *et al.*, 2008). Le chitosan est également utilisé pour guérir les maladies rénales, et enfin, ils ont les mêmes propriétés diététiques que les fibres alimentaires solubles d'origine végétale (Rasmussen et Morrissey, 2008).

Par conséquent, le chitosane a plusieurs applications commerciales. Dans l'industrie alimentaire, il peut être utilisé comme bioadhésif (Dutta *et al.*, 2009), additif alimentaire (Gibert et Rakshit, 2005). Il est, aussi, utilisé pour le traitement des eaux (Bhatnagar et Sillanpaa, 2009), dans l'agriculture (Han *et al.*, 2008), comme base cosmétique (Morganti et Morganti, 2008), dans le secteur pharmaceutique et nutraceutique (Kumar *et al.*, 2004). Une étude récente a montré leur utilisation en microbiologie pour produire la chitinase et le chitosanase (Wang *et al.*, 2006) :

1. Dans le domaine agricole, le chitosane est reconnu principalement pour être un éliciteur de résistance contre les agents pathogènes chez les plantes (Benhamou et Lafontaine, 1995 ; Han *et al.*, 2008). La présence de chitosane comme fertilisant accélère la croissance des plantes et améliore le rendement des cultures (Kumar, 2000). Le chitosane pourrait devenir l'engrais naturel et le pesticide du futur en tant que «bio-pesticide» (Archer et Russel, 2007). En effet, l'enrobage de semences des céréales avec le chitosane leur permet de résister aux attaques de champignons et de bactéries pathogènes (Rabea *et al.*, 2003).

De plus, le chitosane permet de conserver les aliments pour le bétail et protège les animaux contre des problèmes bactériologiques ou viraux. Il permet également de lutter contre les infections respiratoires qui affectent les troupeaux bovins. Il peut être, aussi, appliqué sous forme de spray oculaire (Rabea *et al.*, 2003).

2. alors qu'en cosmétique, le chitosane forme à la surface de la peau un film capable de fixer d'autres principes actifs pour la peau tels que : des molécules hydratantes, des filtres solaires, des acides organiques...etc. La chitine présente des propriétés similaires. Cela fait d'eux de bons candidats pour des formulations de crèmes et de gels (Crini *et al.*, 2009 ; Jarroux, 2011).

3. Les applications alimentaires du chitosane est très prometteuse à cause de sa biocompatibilité et sa non-toxicité. En 1992, le département de santé japonais a autorisé l'utilisation de la chitine et de ses dérivés notamment du chitosane en tant qu'ingrédient alimentaire fonctionnel. Ainsi, il a été utilisé au Japon dans des produits alimentaires grâce à ses effets diététiques (Jeon et *al.*, 2002). D'après Muzzareli (1996), Cardenas et *al.*, (2008), Crini (2009), De Moura et *al.*,(2009), le chitosane est utilisé comme : additifs (liant, émulsifiant, stabilisant, épaississant, de conservation), un agent de clarification, désacidification et détoxification des boissons et des liquides alimentaires, préservation des aliments en enrobage alimentaire [(antioxydant des lipides (Kim et Thomas, 2007)], un ingrédient fonctionnel (agent fixateur, capacité prébiotique) ainsi que biofilms alimentaire (emballage). Les films alimentaires à base de dérivés de chitine sont à la fois une barrière physique et biologique contre les flores d'altération et les contaminations extérieures (Le Roux, 2012).

4. En biomédical, pharmaceutique et clinique, le chitosane est un agent antimicrobien, hémostatique, pansement cicatrisant... Il est également utilisé comme système de libération contrôlée d'agents thérapeutiques par voie orale, transdermique, oculaire et nasale (Chaussard, 2002), pour la vaccination (Bacon et *al.*, 2000 ; Prabakaran et Mano, 2005). Des études récentes tendent à montrer que le chitosane exerce un effet bénéfique sur le renforcement du système immunitaire (Kumar, 2000). Il s'agirait comme film intestinal et comme fibre. Il inhiberait 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 (Kumar, 2000) et encore, un composé vendu pour, lutter contre l'arthrose (Crini et *al.*, 2009 ; Jarroux, 2011).

5. pour les traitements des eaux, la plus grande utilisation du chitosane est pour la coagulation/ floculation et pour l'absorption de métaux lourds. Pour capter les métaux lourds en solution dans l'eau, il est souvent conditionné sous forme de billes de quelques millimètres de diamètre, et il joue alors un rôle plus ou moins identique à celui des résines échangeuses d'ions (Crini et *al.*, 2009; Wu et *al.*, 2010). Actuellement, il se développe, surtout en Asie, où le chitosane est associé à des absorbants classiques comme les argiles, l'alumine, les bentonites...etc. Le chitosane est aussi utilisé pour l'adsorption de colorants (Crini, 2008).

### **I.3.4.3 Hydrolysats protéiques (peptides)**

Les peptides sont générés lors de l'hydrolyse enzymatique des protéines. L'avantage de l'hydrolyse enzymatique est la possibilité de la contrôler et ainsi de produire des peptides en fonction de leur taille ou du rôle que l'on cherche (Kristinsson et Rasco, 2000). Les peptides présentent plusieurs intérêts : en plus de leur digestibilité élevée par rapport aux protéines, ils peuvent présenter des propriétés fonctionnelles utiles en alimentation, ainsi que des propriétés biologiques intéressantes en nutraceutique (Randriamahatody, 2012).

#### **I.3.4.3.1 Les applications des dérivés de l'hydrolyse isolés des co-produits de la mer**

Les hydrolysats protéiques, ou encore l'isolat protéique, sont des molécules d'une importance croissante pour l'industrie et qui a des impacts significatifs sur la recherche et le développement dans des domaines aussi variés que la chimie, la biologie, la santé ou encore la protection de l'environnement (Muzzarelli et Muzzarelli, 2003) (Tab.7). Nous présentons ici les plus prometteuses :

1. Dans le domaine agroalimentaire, les hydrolysats présentent un intérêt particulier dans la nutrition animale à cause de leur digestibilité plus élevée (Heux et *al.*, 2003). Plusieurs études sur l'efficacité de l'utilisation d'hydrolysats de poisson en nutrition animale ont été effectuées. En aquaculture, l'utilisation d'hydrolysats de co-produits de poisson a prouvé son efficacité sur la croissance des poissons en les substituant partiellement à la farine de poisson (Plascencia-Jatomea et *al.*, 2002; Refstie et *al.*, 2004 ; Lian et *al.*, 2005., Kotzamanis et *al.*, 2007 ; Sachindra et Bhaskar, 2008 ; Tang et *al.*, 2008).

2. les hydrolysats des co-produits d'origine marine présentent un intérêt particulier en alimentation humaine dû au fait qu'ils présentent des propriétés fonctionnelles, qui leur permettent de jouer un rôle dans les caractères organoleptiques des aliments ou dans leur durée de conservation. Ainsi, à titre d'exemple, l'hydrolysat de co-produits de hareng présente une propriété de solubilité, de liaison avec les lipides, d'émulsifiant et moussant (Liceaga-Gesualdo et Li-Chan, 1999 ; Sathivel et *al.*, 2003), une capacité de rétention d'eau a été observée dans l'hydrolysat de têtes de crevette (Ruttanapornvareesakul et *al.*, 2005, Ruttanapornvareesakul, 2006).

Les hydrolysats possèdent enfin des acides aminés libres pouvant servir d'exhausteur de saveur. Il a été rapporté que les co-produits de crevette sont de potentielles sources d'aromatant naturel du fait de leur composition en acides aminés tels que l'acide

glutamique, l'acide aspartique, la glycine et l'alanine (Heux *et al.*, 2003 ; Cao *et al.*, 2008). Le Tableau 5, résumé par Randriamahatody (2011), présente quelques exemples de bioactivité de peptides obtenus lors de manipulations biotechnologiques de poissons et de crustacés.

**Tableau 5.** Bioactivité de peptides isolés des co-produits de la mer.

| Bioactivité  | Origine         | Références   |
|--|-----------------|--|
| Antioxydative  | Sole            | Kim <i>et al.</i> , 2008a; Jun <i>et al.</i> , 2004  |
|  | Crevette        | Faithong <i>et al.</i> , 2010; He <i>et al.</i> , 2006; He <i>et al.</i> , 2007; He <i>et al.</i> , 2008 |
|  | Morue           | Jeon <i>et al.</i> , 1999  |
|  | Krill           | Faithong <i>et al.</i> , 2010  |
|  | Saumon          | Nakajima <i>et al.</i> , 2009  |
|  | Colin           | Nakajima <i>et al.</i> , 2009  |
|  | Merlan          | Nakajima <i>et al.</i> , 2009  |
|  | Hoki<br>Thon    | Je <i>et al.</i> , 2005; Kim <i>et al.</i> , 2007<br>Je <i>et al.</i> , 2007                             |
| Antihypertensive (inhibition de la conversion de l'angiotensine I) | Sole            | Kim <i>et al.</i> , 2008a  |
|  | Crevette        | He <i>et al.</i> , 2006; He <i>et al.</i> , 2008   |
|  | Morue           | Jeon <i>et al.</i> , 1999  |
|  | Saumon          | Nakajima <i>et al.</i> , 2009  |
|  | Merlan<br>Colin | Nakajima <i>et al.</i> , 2009<br>Je <i>et al.</i> , 2004; Nakajima <i>et al.</i> , 2009                  |
| Accélération de l'absorption du calcium                            | Hoki            | Kim <i>et al.</i> , 2007   |
|  | Hoki            | Jung <i>et al.</i> , 2005; Jung et Kim, 2007   |
| Sécrétagogue   | Merlan          | Cudennec <i>et al.</i> , 2008  |
|  | Morue           | Ravallec-Plé et Van Wormhoudt, 2003; Slizyte <i>et al.</i> , 2009  |
|  | Crevette        | Cudennec <i>et al.</i> , 2008; Ravallec-Plé et Van Wormhoudt, 2003                                       |
| Antiradicalaire  | Crevette        | Guérard <i>et al.</i> , 2007   |
| Antiprolifératrice   | Morue           | Picot <i>et al.</i> , 2006   |
|  | Crabe           | Picot <i>et al.</i> , 2006   |
|  | Saumon          | Picot <i>et al.</i> , 2006   |

3. les hydrolysats protéiques de composés d'origine marine constituent des ingrédients pour des milieux de culture microbienne de qualité et à coût réduit. Des études ont été effectuées sur l'efficacité de leur utilisation en milieu de culture et les résultats obtenus avec l'hydrolysate de co-produits de thon sont prometteurs (Guérard *et al.*, 2001). L'utilisation de peptones obtenues lors de l'hydrolyse enzymatique de co-produits de crevette et de crabe comme source azotée pour la culture d'*E. coli* s'avère plus efficace par rapport à une peptone commerciale. Les peptides constituent ainsi une source d'azote efficace à moindre coût pour la culture microbienne (Vieira *et al.*, 2005).

4. Les peptides présentent un intérêt dans le domaine nutraceutique et pharmaceutique par leur activité biologique. Des activités anticancéreuse, anti-hypertensive, antimicrobienne, sécrétagogue, antioxydante, immunostimulante...ont été identifiées dans des peptides d'origine marine (Aneiros et Garateix, 2004). Ces peptides bioactifs peuvent être natifs dans les organismes (Hartmann et Meisel, 2007, Fleury et *al.*, 2008), ou de la fermentation (Faithong et *al.*, 2010), ou produits au cours de l'hydrolyse enzymatique (Jeon et *al.*, 1999 ; Ravallec-Plé et Van Wormhoudt, 2003 ; Je et *al.*, 2004 ; He et *al.*, 2006 ; Picot et *al.*, 2006 ; Guérard et *al.*, 2007 ; Je et *al.*, 2007 ; Jung et Kim, 2007 ; He et *al.*, 2008 ; Kim et *al.*, 2008 ; Slizyte et *al.*, 2009 ; Lee, Qian et Kim, 2010 ; Ktari et *al.*, 2013 ; Cheung et Li-Chan, 2014 ; Nasri et *al.*, 2014 ; Ahn et *al.*, 2015 ; Lassoued et *al.*, 2015 ; Abdelhedi et *al.*, 2016).

#### **I.3.4.4 Autres produits dérivés à haute valeur ajoutée**

Depuis une cinquantaine d'années, les travaux des équipes de recherche laissent entrevoir des possibilités de valorisation des co-produits d'origine marine, avec bien souvent, une plus forte valeur ajoutée: collagène et gélatine, (Morimura et *al.*, 2002; Sadowska et *al.*, 2003; Muyonga et *al.*, 2004; Skierka et Sadowska, 2007; Kim et *al.*, 2008), chondroïtine sulfate , huiles riches en acides gras oméga 3 (Johnson, 2002 ; Dumay, 2006; Dumay et *al.*, 2006; Rai et *al.*, 2010), lécithines, Substances aromatiques et glucosamine (Johnson, 2002), Hachis congelé (Andrieux 2004).

### **I.4 GÉNÉRALITÉS SUR L'ALIMENTATION EN AQUACULTURE**

Depuis 2000, l'aquaculture mondiale ne bénéficie plus des taux de croissance annuels élevés des années 1980 et 1990 (10,8 et 9,5%, respectivement). Néanmoins, l'aquaculture continue de croître plus rapidement que les autres grands secteurs de la production alimentaire. La contribution de l'aquaculture à la production mondiale de pêches de capture et d'aquaculture combinées (à l'exclusion des plantes aquatiques) n'a cessé d'augmenter, atteignant 46,8% en 2016, contre 25,7% en 2000. Au niveau régional, l'aquaculture représentait 17 à 18% de la production totale de poisson en Afrique, dans L'Amérique et en Europe, suivie de 12,8% en Océanie. La part de l'aquaculture dans la production de poisson asiatique (à l'exclusion de la Chine) est passée de 19,3% en 2000 à 40,6% en 2016. En 2016, 37 pays produisaient plus de poissons d'élevage que de poissons capturés dans la nature. L'aquaculture représentait moins de la moitié mais plus de 30% de la production totale de poisson dans 22 autres pays en 2016.

La FAO a reçu un peu moins de 120 rapports de données nationales pour l'année de référence 2016, ce qui représente 84,3% (67,5 millions de tonnes, plantes aquatiques exclues) de la production totale de poisson de consommation, en volume; toutefois, si la Chine est exclue, le pourcentage est beaucoup plus bas. Les estimations de la FAO pour les pays non déclarants représentent 15,1% (12,1 millions de tonnes) de la production totale. Les données restantes sont des statistiques officielles recueillies ponctuellement auprès de quelques pays qui n'ont pas répondu officiellement à la demande de données nationales de la FAO.

Les étangs en terre demeurent le type d'installation le plus répandu dans le secteur de l'aquaculture continentale, bien que les bassins de type *raceway*, les réservoirs hors-sol, les enclos et les cages soient aussi couramment utilisés lorsque les conditions locales le permettent. La rizipisciculture est certes importante dans les zones où elle est traditionnellement pratiquée mais elle se diffuse rapidement, en particulier en Asie.

L'élevage de poissons continue de dominer l'aquaculture continentale, avec 92,5 pour cent (47,5 millions de tonnes) de la production totale. Cependant, sa part s'élevait à 97,2 pour cent en 2000. Cette baisse s'explique par un développement relativement soutenu de l'élevage d'autres groupes d'espèces, en particulier les crustacés produits par l'aquaculture continentale en Asie, y compris les crevettes, les écrevisses et les crabes. La production de l'aquaculture continentale comprend certaines espèces de crevettes marines, telles que la crevette à pattes blanches, qui peuvent être élevées en eau douce ou en eau continentale saline-alkaline après acclimatation.

L'aquaculture marine, également appelée mariculture, se pratique en mer, dans un environnement aquatique marin, et l'aquaculture côtière dans des structures totalement ou partiellement construites, à proximité immédiate de la mer, telles que des étangs côtiers ou des lagunes fermées. L'aquaculture côtière en eau saline ne permet pas de maintenir un niveau de salinité aussi constant que la mariculture en raison des précipitations et de l'évaporation, qui dépendent de la saison et du lieu. La production de poisson en 2016, attribuée à l'aquaculture marine et côtière en Afrique, aux Amériques, en Europe et en Océanie est de 28,7 millions de tonnes pour la consommation, avec une prédominance de l'aquaculture continentale.

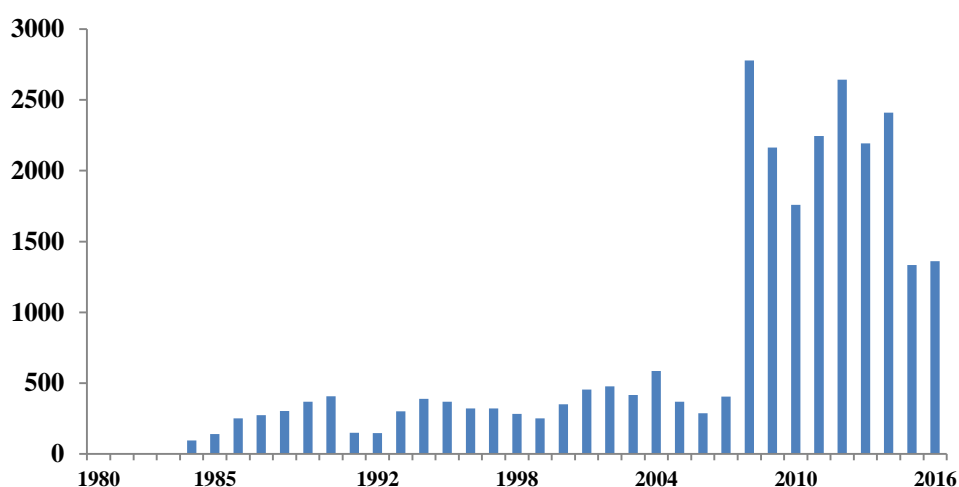
#### **I.4.1 L'aquaculture en Algérie**

L'aquaculture algérienne connaît actuellement un grand essor en matière de production. Plusieurs plans et programmes de développement ont été élaborés permettant ainsi le démarrage de plusieurs projets privés d'aquaculture dans différentes filières d'activité.

La production aquacole actuelle provient de:

- ✓ La pisciculture marine en bassin et en cages flottantes pratiquée par des opérateurs privés.
- ✓ La conchyliculture pratiquée par des opérateurs privés produisant quelques dizaines de tonnes de moules méditerranéennes et d'huîtres creuses.
- ✓ La pêche continentale exercée par des concessionnaires privés au niveau des barrages et des retenues collinaires, pour des espèces telles que la carpe commune, les carpes chinoises, le sandre, le black bass et le barbeau.
- ✓ La pisciculture intégrée à l'agriculture exercée au niveau des exploitations agricoles par des agriculteurs, pour des espèces telle que Tilapia
- ✓ La pêche lagunaire en eau saumâtre et en eau douce dans l'Est du pays est pratiquée par un concessionnaire privé, selon le cahier des charges signé par ce dernier, dans le cadre d'une préservation de la zone qui a un statut particulier. Les espèces capturées sont diverses (dorade royale, mullets, anguille, sole, bar européen, sar, palourde, huître, marbré, crevette caramote, carpes commune et chinoises)

La production aquacole annuelle a régulièrement augmenté depuis 2004 (641 tonnes), jusqu'en 2012 où elle a dépassé les 2 600 tonnes toute filière confondue (Tab.8). Cette production, constituée pour 90% de poissons d'eau douce, résulte en grande partie des campagnes régulières d'empoissonnement de retenues collinaires et des barrage avec des larves et des alevins de carpe commune, de carpes chinoises (issue de l'importation) et de mullet à grosse tête, effectuées par l'administration afin d'y développer la pêche commerciale. Une diminution remarquable au niveau de la production aquacole a été remarquée à partir des années 2015 et 2016 (1200 tonnes) (Fig.19).



**Figure 18.** Production aquacole totale (en tonnes). (FAO, 2018)

**Tableau 6.** Les productions aquacoles de poisson (tonnes/an), entre 2006 – 2012. (MPRH 2014)

| Années/Types d'aquaculture | Aquaculture d'eau douce | Aquaculture d'eau de mer | Pêche Continentale | Pêche lagunaire | Total |
|----------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------|-----------------|-------|
| 2006                       | 33 348                  | 15 650                   | 174 801            | 64 5            | 288   |
| 2007                       | 18 210                  | 44 385                   | 316 652            | 25 78           | 405   |
| 2008                       | 283 220                 | 4 958                    | 2 392 993          | 98 73           | 2780  |
| 2009                       | 267 675                 | 46 340                   | 1 706 601          | 1 420 125       | 2163  |
| 2010                       | 219 548                 | 119 183                  | 1 344 390          | 75 621          | 1759  |
| 2011                       | 27 661                  | 199 649                  | 1 987 565          | 31 459          | 2246  |
| 2012                       | 14 007                  | 366 583                  | 2 258 433          | 90 17           | 2648  |

De 2007 à ce jour, on n'a eu plus recours à des opérations d'importations d'alevins car l'opération de reproduction artificielle est effectuée par le Centre de Recherche au niveau des deux écloséries pilotes que le Ministère de la pêche et des ressources halieutiques a réalisé, une à l'Est et l'autre à l'Ouest du pays. Un Programme National de Développement de l'Aquaculture (2015-2019) est actuellement mis en œuvre. Des actions liées à des projets aquacoles publics et privés y sont planifiés. Les projets publics ont surtout un caractère de démonstration et de soutien à la production, alors que les projets privés portent sur des filières aquacoles de production à but commercial et ayant une grande valeur commerciale. La priorité dans ce programme de développement est donnée au développement des activités aquacoles marine en off shore, pour leur caractère facile et n'ayant pas de contrainte d'ordre administratif surtout pour l'obtention des concessions et pour leur entrées en production rapidement.

Dans le cadre de la valorisation de l'infrastructure hydrique par la pisciculture, une opération de repeuplement et empoissonnements a été effectuée avec des alevins de carpes (*Cyprinus carpio*, *Ctenopharyngodon idellus*, *Hypophthalmichthys molitrix*, *Aristichthys nobilis*, *Tilapia* d'Egypte). Un nouveau programme de développement de l'aquaculture marine et d'eau douce à horizon 2020, vise une production de plus de 100 000 tonnes de poissons et crustacés.

Outre la pêche lagunaire d'espèces indigènes (e.g. *Liza aurata*, *Solea vulgaris*, *Dicentrarchus labrax*, *Sparus aurata*, *Lithognathus mormyrus*, *Anguilla anguilla*, *Diplodus sargus*, *Epinephelus aeneus*, *Thynnus thynnus*, *Pagrus pagrus*, *Barbus barbus*), les principales activités aquacoles jusqu'au début des années 1990 ont surtout concerné l'empoissonnement avec des espèces introduites dans des plans d'eau naturels et artificiels. Les espèces qui ont été

introduites sont : *Cyprinus carpio* , *Gambusia halbrooki*, *Oncorhynchus mykiss* , *Tinca vulgaris*, *Leuciscus erythrophthalmus*, *Tilapia zillii*, *Micropterus macrochir*, *Crassostrea gigas* , *Mytilus galloprovincialis* , *Aristichthys nobilis* , *Hypophthalmichthys molitrix* , *Ctenopharyngodon idellus* , *Stizostedion lucioperca* et *Silurus glanis* . A travers le démarrage des fermes aquacoles privées d'autres espèces sont élevées actuellement tel que le Maigre *Argyrosomus regius*, le loup et la dorade.

#### **I.4.2 La production mondiale de Tilapia rouge**

Le tilapia est un poisson d'eau douce appartenant à la famille des Cichlidés. Ils sont originaires d'Afrique, mais ils ont été introduits dans beaucoup de régions tropicales, subtropicales et tempérées du monde pendant la deuxième moitié du 20ème siècle (Pillay, 1990 ; Charo-Karisa et *al.*, 2006).

Depuis le siècle dernier, le nombre d'espèces de tilapia a fortement augmenté avec la découverte d'espèces nouvelles, ce qui a conduit les systématiciens à revoir régulièrement la taxonomie de ce genre. Le rapport d'analyse de la situation du marché 2017, a estimé que 180 000 tonnes de tilapia (entier et en filet) ont été commercialisées sur le marché international entre janvier et mars 2017, soit un volume d'environ 10 pour cent inférieur à celui de l'année précédente. Les principaux importateurs de tilapia étaient les États-Unis d'Amérique, le Mexique, la Côte d'Ivoire et l'Iran, et les principaux exportateurs étaient la Chine, la province chinoise de Taiwan, la Thaïlande et l'Indonésie (Chowdhury, 2011 ; Daudpota et *al.*, 2014; FAO, 2018).

Les exportations totales de tilapia chinois ont augmenté de près de 7% par rapport à la même période en 2016, pour atteindre 80 600 tonnes. Les exportations totales vers les États-Unis d'Amérique ont diminué de 11%, pour s'établir à 27 572 tonnes. En Amérique latine, la production de tilapia se poursuit sur tout le continent. Le Panama lance un projet visant à développer la production de tilapia rouge (*Oreochromis. sp*) Afin de répondre à la demande intérieure, en raison de sa popularité parmi les consommateurs. Selon une étude récente de la Société brésilienne de recherche agricole (EMBRAPA), une augmentation de 9% de production de tilapia a été remarquée par rapport à l'année 2016. Le Mexique vise à augmenter la production de 10% et à créer une marque collective. Tandis que, le Moyen-orient est le plus grand marché de tilapia surgelé en provenance d'Inde, les Émirats arabes unis étant le plus grand. Les exportations de tilapia entier congelé ont augmenté de 4,18% vers les Émirats arabes unis (Émirats arabes unis) pour atteindre 329 tonnes au premier trimestre de 2017 par rapport à l'année précédente. Les exportations totales de tilapia de l'Inde

vers le Moyen-Orient se sont accrues d'un marginal de 1% pour atteindre 505 tonnes. L'Inde prévoit de répondre à l'énorme demande de poisson sur le marché intérieur et de conquérir une part importante du commerce mondial d'exportation en promouvant la pisciculture à grande échelle, même dans les États enclavés (FAO, 2018).

Les exportations de la province chinoise de Taiwan vers la région se sont affaiblies de 43%, passant à 808 tonnes par rapport à l'année précédente, en raison de fortes baisses des exportations à destination du Koweït. Alors qu'en Europe, les importations totales de tilapia dans l'Union européenne ont encore diminué de 2,6% pour atteindre 6 434 tonnes par rapport à la même période de 2016. Au sein de l'UE, l'Espagne importe le plus gros volume de tilapia, principalement des filets, avec une augmentation de 35% de ses importations au cours de la période considérée. Viennent ensuite le Royaume-Uni, la France et l'Allemagne. L'Asie reste la principale source d'approvisionnement. Les cinq principaux fournisseurs sont la Chine, le Vietnam, l'Indonésie, la Thaïlande et la Malaisie, représentant près de 99% du total. Le filet de première qualité renforcé en provenance de Taiwan a enregistré une baisse de 51% de ses importations (FAO, 2018).

#### **I.4.3 Présentation de l'espèce Tilapia rouge**

Le tilapia rouge hybride, comme toutes les autres espèces du même ordre *Oreochromis*, est l'une des plus importantes espèces élevées actuellement dans les eaux douces tropicales et subtropicales. Son élevage se fait toute l'année, en circuit ouvert ou fermé dans plusieurs régions du monde. Sa croissance rapide et son adaptation à des écosystèmes variés de même que sa chair savoureuse font de lui un excellent candidat pour l'Aquaculture. Leur consommation moyenne mondiale passerait de 14 à 25 kg par habitant d'ici 2030 (FAO, 2018).

Les Tilapias, fondement de l'aquaculture africaine, forment désormais, à partir de quelques espèces endémiques en Afrique, la base de la pisciculture d'eau douce de la ceinture intertropicale du globe (Lazard, 1990).

Le terme Tilapia est en général utilisé pour désigner l'important groupe élevé à des fins commerciales appartenant à la famille des Cichlidés. Cette expression est d'origine africaine du mot « thiape » qui veut dire poisson, les poissons qui creusent le sol de l'étang pour faire des nids dans lesquels ils fraient, portent le nom de tilapia. L'élevage des Tilapias existe depuis plus de 2500 ans (Chapman, 2003).

Peu de travaux sur la biologie de l'espèce *Oreochromis.sp* (Fig. 20) ont été réalisés contrairement au Tilapia du Nil (*Oreochromis niloticus*). En raison de l'importance, de l'aspect économique et des problèmes de la culture du tilapia, des travaux considérables ont été réalisés en ce qui concerne l'inversion sexuelle du tilapia, afin de produire des populations hybrides de bonne qualité nutritionnelle, d'une croissance rapide, d'une capacité adaptative dans différentes régions du monde.....etc. Ces études rapportées ont été réalisées sur l'inversion sexuelle du tilapia, par sexage manuel, l'hybridation, la manipulation génétique et l'inversion sexuelle hormonale (Pradeep et al., 2013 ; Suprayudi et al., 2013 ; El-Sayed et al., 2014 ; Hickling, 1960 ; Feist et al., 1995 ; Singh et al., 2018). L'élevage de population mono-sexe mâle est de plus en plus demandé dans l'élevage de tilapia pour les simples raisons : les mâles grossissent deux fois plus vite que les femelles (Mélard et Philippart, 1981; Chervinski, 1982), l'inhibition de l'activité reproductive qui entraîne une surpopulation en petits individus dans le milieu d'élevage (Little et al., 2003), afin d'avoir toute une population homogène lors de la récolte, ayant une taille individuelle intéressante et de bonne valeur commerciale.

Le tilapia rouge (Fig.20), est un poisson d'élevage obtenu après hybridation<sup>1</sup> de deux espèces (*O.Niloticus* x *O.Mossambicus*), se reconnaît à sa couleur rosâtre (elle tend vers la rouge orangé) avec des taches noire; un corps, de forme variable mais jamais très allongé, plus ou moins comprimé et recouvert d'écailles cycloïdes. Le tilapia rouge, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) x *O. mossambicus* (Peters, 1852) est un hybride fertile utilisé dans les systèmes de culture semi-intensifs, ce qui montre une relation antagoniste entre son processus de reproduction et sa croissance corporelle. Auparavant, divers chercheurs ont suggéré que la production de tilapias triploïdes était l'une des meilleures solutions possibles pour négocier le problème de la maturité sexuelle précoce et de la reproduction non désirée en culture (Mair, 1993). En outre, une étude récente a également montré la possibilité de biaiser le tilapia rouge chez des mâles phénotypiques en utilisant la triploïdie par choc thermique (Pradeep et al., 2012), ce qui pourrait constituer une alternative possible pour remplacer l'utilisation future des stéroïdes dans la culture du tilapia.

Le tilapia est un poisson à croissance relativement rapide qui se nourrit aux niveaux inférieurs de la chaîne alimentaire. Son régime alimentaire est très plastique (de la fertilisation aux aliments composés) principalement basé sur l'utilisation de produits et de sous-produits végétaux ou d'aliments composés à faible teneur en protéines (25 %). En fonction de son régime alimentaire, le tilapia peut atteindre la taille marchande de 400 g en 8 mois (Lazard, 2007). Le tilapia peut être produit partout où l'eau est disponible, certaines espèces ayant

même l'aptitude à s'adapter à des eaux saumâtres/salées. La seule contrainte majeure est d'ordre thermique : 15°C minimum – 38°C maximum (optimum : 28-32°C).



**Figure 19.** Photographie de *Tilapia Oreochromis sp*

#### I.4.3.1 Classification

Les tilapias au sens large appartiennent à l'ordre des Perciformes, au sous-ordre des Labroidei et à la famille des Cichlidae. Ils comprennent les genres *Tilapia* au sens strict, *Sarotherodon* et *Oreochromis* dont *Oreochromis niloticus* (L). La famille des Cichlides appartient à l'ordre des perciformes. Ils occupent les eaux douces et saumâtres d'Afrique et fréquentent à peu près tous les biotopes à l'exception des eaux torrentielles et cavernicoles.

Le terme *Tilapia* regroupe une centaine d'espèces appartenant à la famille des Cichlidés qui englobe quatre genres en se basant sur les caractères anatomiques, le comportement reproducteur et la nutrition (Trewavas, 1983) :

- ✓ *Oreochromis* : avec une incubation buccale (et une garde uniparentale) maternelle, ils sont en plus planctonophages ;
- ✓ *Sarotherodon* : avec une incubation buccale et une garde biparentale ou paternelle, ils sont planctonophages ;
- ✓ *Tilapia* : avec une incubation des œufs sur substrat et une garde biparentale (en couple), ils sont macrophytophages ; (Fig.21).
- ✓ *Danakilia* : caractéristiques éco-morphologiques particulières.

En élevage, seul le genre *Oreochromis* est représenté avec cinq espèces principales :

*Oreochromis niloticus* (Tilapia du Nil) ; *Oreochromis mossambicus* ; *Oreochromis aureus* ; *Oreochromis hornorum* ; Le Tilapia rouge, issu du croisement : *O. mossambicus* x *O. niloticus*.

Il y a au moins 77 espèces connues de tilapia. Les différentes sous espèces sont classées en fonction de leur comportement reproductif et de leurs préférences alimentaires. L'espèce de

tilapia appartenant au genre *Oreochromis* fraie dans des nids creusés dans le fond de l'étang et les oeufs sont couvés dans la bouche de la mère (Fig.21).



**Figure 20.** Incubation bucale des œufs du Tilapia rouge *Oreochromis. sp*

**Embranchement :** Vertébrés

**Sous embranchement :** Gnathostomes

**Super classe :** Poissons

**Classe :** Ostéichtyens

**Sous classe :** Téléostéens

**Ordre :** Perciformes

**Sous ordre :** Percoides

**Famille :** Cichlidés

**Sous famille :** Tilapinés

**Genre :** *Oreochromis* (Günther, 1889)

Le tilapia remplace progressivement les carpes dans ce type de systèmes. L'aliment utilisé dans ces systèmes est constitué d'un (ou plusieurs) sous-produit(s) tel que le son de riz et autres déchets (et effluents d'élevage) divers.

L'aquaculture industrielle du tilapia correspond à des systèmes intensifs ou hyper-intensifs avec une production destinée au marché international. Ces systèmes sont caractérisés par l'utilisation de souches sélectionnées et d'un aliment composé performant. Le tilapia qui est commercialisé aux Etats-Unis ou en Europe provient essentiellement de ce type d'aquaculture. L'utilisation généralisée d'hormones masculinisantes (17 alpha methyltestostérone) pour la production de descendance monosexes de tilapias pose problème pour la commercialisation, notamment en France où son utilisation est interdite pour des

poissons destinés à la consommation. La recherche est à l'oeuvre pour mettre au point des techniques alternatives : voie génétique, voie environnementale (Lazard, 2007).

#### **I.4.3.2 Géographie de la production de tilapias**

En termes de localisation géographique, l'Asie représente plus de 80 % de la production de tilapia dans le monde et cette suprématie ne fait que s'accroître. La Chine est le plus grand producteur avec 900 000 tonnes et une croissance soutenue. L'essentiel de la production est commercialisé sur le marché national mais récemment ce pays est devenu le principal exportateur de ce produit vers les Etats-Unis (140 000 tonnes équivalent poisson frais en 2005).

Bien que l'Afrique soit le continent d'origine des tilapias, la production sur ce continent reste extrêmement limitée. Quelques fermes industrielles commencent à apparaître dans certains pays d'Afrique tels que le Nigeria, le Zimbabwe, l'Ouganda mais tout reste à faire en termes de développement de l'aquaculture en général et de la pisciculture du tilapia en particulier en Afrique subsaharienne (Lazard, 2007).

#### **I.4.3.3 Alimentation des tilapias**

Dans le milieu naturel, les juvéniles et les jeunes poissons de tilapia sont omnivores. Ils se nourrissent principalement de zooplancton et de faune benthique mais ingèrent aussi des détritiques et s'alimentent de phytoplancton. Lorsqu'ils atteignent environ 6 cm de longueur totale, les tilapias deviennent essentiellement herbivores (Moriarty et Moriarty, 1973).

Tandis qu'en élevage intensif ou semi-intensif, l'aliment usuellement utilisé pour l'élevage du tilapia *Oreochromis* est expliqué dans le tableau 7, en notant la formule et la composition de l'aliment généralement utilisés à différents stades de la vie du tilapia dans des systèmes d'élevage intensifs. Des essais réalisés en Israël (Viola and Arieli, 1983) avec supplémentation de l'aliment (25% de protéines) avec des huiles de diverses origines (végétales, animales terrestres et de poissons) à raison de 4 à 8 % ont tous conduit au même résultat : les lipides supplémentaires n'ont pas induit de meilleure croissance ni un meilleur taux de conversion. Une récente étude, concernant le développement de la filière à des moindres coûts en Benin, a été réalisée en systèmes intégrés volaille-poisson, pourrait être une stratégie prometteuse (Diogo et al., 2018).

Il faut bien connaître la composition nutritionnelle des différents ingrédients qui composent l'alimentation fournie en complément. Cette dernière peut être composée d'un seul ingrédient ou de plusieurs, simplement mélangés ensemble ou réduits en poudre et associés dans des

mélanges semi-humides avant d'être distribués. Les principaux produits alimentaires sont des sous-produits agricoles : son de riz, riz et maïs brisé et parfois des herbes et des feuilles. Les ingrédients secs sont normalement moulus avant d'être dispersés dans l'étang. De nombreux ingrédients bruts d'origine végétale non appropriés pour le frai de tilapia le deviennent pour les alevins et les poissons plus grands. Les granulés disponibles dans le commerce peuvent aussi être considérés comme une source d'aliments supplémentaires quand ils sont utilisés en complément d'un régime de fertilisation des étangs ou bien avec des ingrédients alimentaires bon marché. Certains exploitants ont souvent recours à une alimentation formulée à un stade particulier de la vie du poisson (Creswell, 2005).

**Tableau 7.** Formule (ingrédients) et composition immédiate (% de matière sèche) des granulés communément utilisés à différents stades de la vie du tilapia du Nil dans des systèmes d'élevage intensifs. (Creswell, 2005)

| Ingrédients (%)               | Première étape | Alevinage | Grossissement | Finition |
|-------------------------------|----------------|-----------|---------------|----------|
| Farine de poisson             | 15,0           | 12,0      | 10,0          | 5,0      |
| Huile de poisson              | 4,0            | 3,0       | 3,0           | 2,0      |
| Maïs                          | 0,0            | 0,0       | 3,12          | 14,88    |
| Son de riz                    | 0,0            | 24,64     | 35,0          | 35,0     |
| Son de blé                    | 10,0           | 10,0      | 10,0          | 10,0     |
| Manioc                        | 6,7            | 10,0      | 10,0          | 10,0     |
| Farine de soja                | 62,4           | 38,5      | 27,3          | 21,1     |
| Calcaire                      | 0,6            | 0,7       | 0,7           | 0,8      |
| Hydrogénophosphate de calcium | 1,1            | 0,96      | 0,68          | 1,02     |
| Prémélange de vitamines*      | 0,1            | 0,1       | 0,1           | 0,1      |
| Prémélange de sels minéraux*  | 0,1            | 0,1       | 0,1           | 0,1      |
| Composition approximative (%) |                |           |               |          |
| Protéines brutes              | 40,0           | 30,0      | 25,0          | 20,0     |
| Lipides brutes                | 6,0            | 5,0       | 4,0           | 4,0      |
| Fibres brutes                 | 3,5            | 4,7       | 5,2           | 5,2      |
| Coût (US\$/tonne) in 2005     | 300,0          | 250,0     | 220,0         | 200,0    |

En générale, les densités de peuplement, la taille du poisson, le type et le niveau d'apports en éléments nutritifs, la période de culture, les conditions du milieu (taux d'échange d'eau et éventuellement l'aération)...., tout ces paramètres influencent la croissance du tilapia dans différents systèmes de culture, notamment les aquariums en verre (Huang et Chiu 1997), les cages marines flottantes (Watanabe et *al.*, 1990 ; Cruz et Ridha 1991), les étangs de terre (Zonneveld et Fadholi 1991) et des réservoirs en béton (Siddiqui et *al.*, 1989).

Les taux d'alimentation devraient être calculés à partir de la productivité naturelle des étangs et du programme de fertilisation. Si la transparence de l'eau diminue, il faut par exemple les

réduire. Inversement, si elle augmente, il faut les augmenter et/ou améliorer la qualité des nutriments (par exemple leur teneur en protéines). Les taux optimaux d'alimentation et de fréquence de distribution de celle-ci dépendent des caractéristiques du site d'élevage et des différents types d'aliments supplémentaires utilisés. Dans une étude détaillée d'Orachunwong *et al.* (2001), on remarque que le tilapia hybride rouge élevé dans des cages flottantes et nourri trois ou quatre fois par jour avec un régime contenant 25 % de protéines, grandit mieux et présente un meilleur rapport de conversion alimentaire que s'il est nourri seulement deux fois par jour.

#### I.4.3.4 Exigences écologiques

Le tilapia du Nil est une des espèces tropicales qui préfère vivre dans une eau peu profonde. Les températures létales inférieures et supérieures pour ce poisson sont 11-12 °C et 42 °C, respectivement (Mélard, 1986 ; Sifa *et al.*, 2002), alors que les températures optimales varient entre 31 et 36 °C. Au dessous de 16-17°C, il cesse de s'alimenter et devient de plus en plus sensible à une série de maladies (Chervinski, 1982). En ce qui concerne la reproduction, la température adéquate s'échelonne entre 22-30°C (Huet, 1970).

En raison de leur forte adaptabilité aux facteurs écologiques biotiques et abiotiques, l'élevage de cette espèce peut être réalisé dans les eaux douces, chaudes, ou dans des conditions bien contrôlées après une éventuelle acclimatation (Derouiche *et al.*, 2009). En effet, ce poisson est une espèce euryèce qui s'adapte aux larges variations des facteurs écologiques, pouvant ainsi coloniser des milieux extrêmement différents (CTA, 2012, 2015). Le tableau suivant récapitule les différentes valeurs moyennes des paramètres physico-chimiques tolérés pour la survie de ce poisson.

**Tableau 8.** Qualité de l'eau requise pour l'élevage des Tilapia (Suresh, 2003)

| Paramètre         | T (°C)  | Salinité (PSU) | Alcalinité (mg/L) | Dureté (mg/L) | Ammoniac (mg/L) | Oxygène dissous (mg/L) | pH        |
|-------------------|---------|----------------|-------------------|---------------|-----------------|------------------------|-----------|
| <b>Intervalle</b> | 26 – 32 | 0 – 20         | > 20              | < 50          | < 0,1           | 3 – 5                  | 6,5 – 8,5 |

Bien que la plupart des tilapias soient des espèces d'eau douce, leur capacité d'adaptation à différentes salinités est nettement remarquable (Stickney, 1986). Ainsi, le tilapia peut s'adapter à des eaux de salinité comprise entre 0,015-30 g/l. Les tilapias montrent leur capacité à supporter des salinités élevées jusqu'à 28 g/l (Azaza et Kraiem, 2007). Toutefois, et

en ce qui concerne sa reproduction, ce poisson serait incapable de se reproduire au-delà d'une salinité qui dépasse 15-18 g/l (Balarin et Hatton, 1979).

Les tilapias sont capables de survivre dans des conditions où la concentration en oxygène dissous est très basse. En effet, ils arrivent même à résister à des teneurs inférieures à 0,5 mg/l, niveau considéré inférieur au seuil limite toléré pour la plupart des espèces à intérêt aquacoles (Rappaport et *al.*, 1976). Toutefois, une teneur minimale de 2 à 3 mg/l est recommandée en élevage, au-dessous de laquelle une dépression du taux métabolique et de croissance peut affecter la production.

Le Tilapia présente une capacité de survie dans des milieux de pH extrêmes. Cependant, le pH optimal conseillé pour sa survie et son élevage oscille entre 7 et 8 (Huet, 1970). En pisciculture, l'intoxication par l'ammoniaque est étroitement liée au pH, dont l'augmentation entraîne la transformation d'une quantité importante de l'ammoniaque totale sous sa forme toxique (NH<sub>3</sub>) (Azaza, 2004). La concentration des déchets métaboliques azotés excrétés par les branchies et les urines dépend essentiellement de la température, de la taille des individus ainsi que de la quantité et la quantité de l'aliment distribué. Cette concentration doit être maintenue inférieure au seuil critique du poisson, en ne dépassant pas les 15 mg/l.

L'action de la lumière, bien qu'étroitement liée à la température, agit sur la croissance via le système endocrinien. En effet, Mélard et *al.*, (1986) expliquent qu'une photopériode optimale (18 h) stimule la sécrétion de l'hormone de croissance chez le tilapia. Par ailleurs, les larves sont plus sensibles à la photopériode que les alevins et les juvéniles (El Sayed et Mamdouh, 2004). Expérimentalement, les larves qui sont exposées à une longue période d'éclairement (18-24h) ont une meilleure croissance et une efficacité alimentaire significativement plus importante que celles exposées à une période courte ou intermédiaire entre 6-12h (El Sayed et Mamdouh, 2004).

**PARTIE EXPÉRIMENTALE**  
**CHAPITRE II**

## CHAPITRE II : HYDROLYSE ENZYMATIQUE DES CO-PRODUITS MARINS ET VALORISATION DES FRACTIONS RÉSULTANTES

### II.1 L'HYDROLYSE ENZYMATIQUE DES PROTÉINES DE THON ROUGE ET DE LA CREVETTE ROUGE

#### 1. Introduction

Les nouveaux procédés de traitement des produits marins sont axés sur la génération de molécules bioactives pouvant être utilisées comme compléments ou ingrédients dans des formulations d'aliments fonctionnels destinées à la consommation humaine et animale. L'hydrolyse est l'une des techniques les plus efficaces utilisées pour produire des peptides bioactifs. Les têtes de poisson, en raison de leur teneur élevée en protéines, représentent une bonne matrice protéique pour la production d'hydrolysats de protéines de poisson (Dumay, 2006 ; Randriamahatody et *al.*, 2012). Ces produits de qualité améliorée pourraient être obtenus par hydrolyse enzymatique soit par une méthode autolytique traditionnelle, utilisée pour la préparation d'autolysats, comme l'ensilage de poisson, soit par une méthode hétérolytique au moyen d'enzymes exogènes.

Au cours des dernières décennies, les hydrolysats de protéines enzymatiques de sources marines offrent un vaste réservoir de peptides bioactifs caractérisés par plusieurs activités biologiques, notamment les antioxydants, l'antihypertension (Nasri et *al.*, 2014 ; Lassoued et *al.*, 2015), l'hypoglycémie (Ktari et *al.*, 2013) et l'anti-inflammatoire (Ahn et *al.*, 2015)... etc.

Ce sous-chapitre, est consacré à la réalisation d'hydrolyses enzymatiques issues des co-produits de la crevette rouge *A. antennatus* et du thon rouge *T. thynnus* en utilisant deux enzymes commerciales qui fonctionnent à un pH extrême (acide et basique). Ces types d'enzyme sont choisis pour cette étude car les conditions de pH extrême favorisent l'extraction des protéines à partir des co-produits. Elles permettent également l'inhibition de la prolifération microbienne (Randriamahatody, 2011). Pour ensuite, voir s'il est possible de générer des fractions potentiellement valorisables par le biais de l'hydrolyse enzymatique en choisissant au plus tard, l'enzyme la mieux adaptée pour la valorisation de ces deux co-produits en aquaculture.

## 2 Matériels et méthodes

### 2.1 Matériel biologique

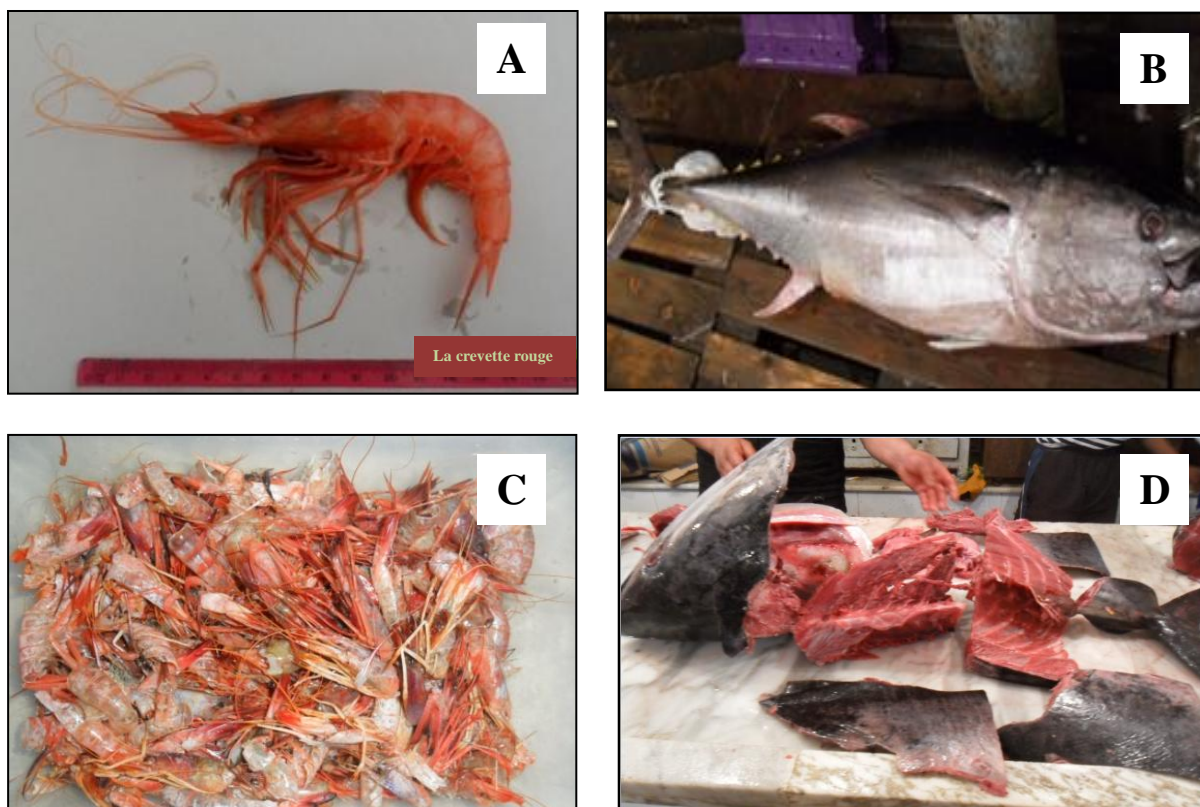
Les co-produits de la crevette rouge (*A. antennatus*) et du thon rouge (*T. thynnus*) utilisés lors de cette étude vont être hydrolysés par voie enzymatique.

Les thons rouges et les crevettes rouges (Fig 21A et B respectivement) sont pêchés au niveau des côtes algériennes et nos échantillons ont été achetés du marché de la ville de Mostaganem. Les co-produits de la crevette sont constitués principalement par les têtes (partie céphalothoracique) et les carapaces (partie abdomen) (Fig. 21C). Au niveau du laboratoire, les crevettes ont été décortiquées de leurs coquilles et têtes, dont ils représentent environ 31,2% du poids total de l'espèce. Ces co-produits ont été lavés à l'eau du robinet, séchés (à 25°C) et broyés dans un broyeur (Waring Commercial Blender, USA). Les poudres obtenues (entre 100 et 3000 µm de taille) ont été soigneusement collectées et maintenues à -20 °C jusqu'à leur analyse.

Tandis que les thons ont été filetés manuellement, au niveau du marché et à l'issue de cette étape de transformation, les pièces rejetées (queues, têtes, peaux et arêtes) ont représenté 42% du poids total de chaque poisson (Fig 21D). Au niveau du laboratoire, les co-produits ont été finement hachés et broyés dans le broyeur (Waring Commercial Blender, USA) et conservés à -20 °C jusqu'à leur analyse.

### 2.2 Matériel enzymatique

Deux enzymes utilisées au cours de ce chapitre la Pepsine et la Savinase fournies par Sigma Aldrich (Steinheim, Allemagne). La Pepsine est une endopeptidase extraite de la muqueuse gastrique porcine, elle porte le numéro enzymatique (EC. 3.4.23.1). Elle fonctionne en milieu acide, le pH exigé est de 2 et la température optimale est de 40°C. Le ratio enzyme/substrat est de 0,3%. Tandis que la Savinase est l'une des enzymes utilisées dans la fabrication des détergents, elle est vendue sous le code enzymatique (EC 3.4.21.14). Cette enzyme fonctionne en milieu alcalin, exigeant un pH 8 et la température optimale est 50°C. Le ratio enzyme/substrat utilisé est de 0,3%.

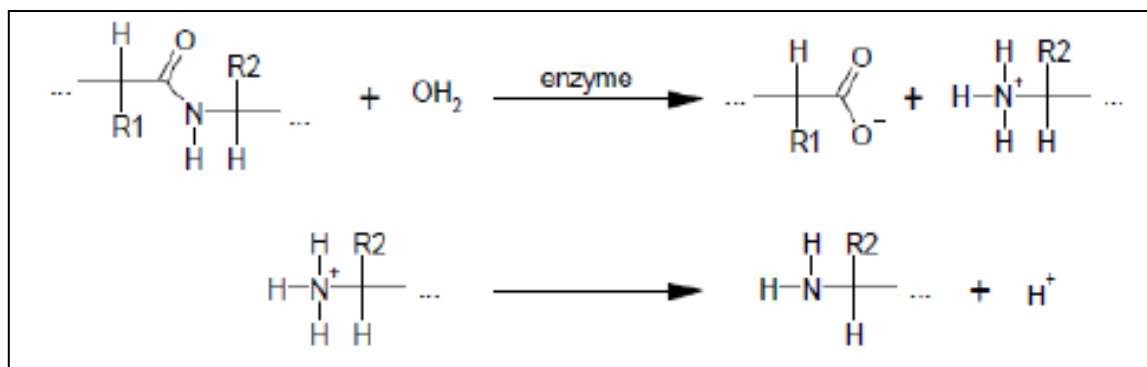


**Figure 21.** (A) Aspect général de la crevette rouge *A. antennatus*, (B) et de thon rouge (*T. thynnus*), (C) les co-produits après décorticage de la crevette (carapaces + têtes), (D) les co-produits récupérés après filetage (têtes, queue, peau et arêtes).

### 2.3 Hydrolyses enzymatiques

#### ✓ Principe

Au cours d'une hydrolyse enzymatique, les liaisons peptidiques entre 2 acides aminés sont clivées. Cette réaction est catalysée par une enzyme et donne naissance à au moins 2 peptides. Un proton  $H^+$  est ainsi libéré (Figure 22), conduisant à l'acidification du milieu. Le degré de dissociation des ions  $R^+N^+H_3$  est suffisant à pH supérieur à 6,5 (Ravallec-Plé et *al.*, 2000). Lorsque le pH est inférieur, la réaction s'inverse alors et ce sont les ions  $OH^-$  qui seront libérés.



**Figure 22.** Schéma réactionnel de la libération de proton  $\text{H}^+$  lors de l'hydrolyse enzymatique à  $\text{pH} > 6,5$ .

Chaque hydrolyse est réalisée suivant les conditions optimales d'activité de l'enzyme. L'hydrolyse est réalisée selon le processus utilisé par Dumay (2006), Kechaou (2007), Nguyen (2009), Abdelhedi *et al* (2016) et Hamdi *et al* (2018) avec quelques modifications.

### 2.3.1 Déroulement de l'hydrolyse

Pour chaque hydrolyse, environ 100 g des co-produits de crevette et 100 g des co-produits de thon ont été utilisés.

1. Concernant l'hydrolyse enzymatique en milieu alcalin, les co-produits ont subis des prétraitements différents:

- ✓ Les co-produits de la crevette ont été déminéralisés trois fois par l'HCl (0,55 N, pendant 30 min, 4 °C). Le produit ainsi obtenu a été lavé plusieurs fois à l'eau distillée à la neutralité du pH, ensuite séché à l'étuve à 50 °C pendant 18 h.
- ✓ Quant aux co-produits du thon, ces derniers ont été délipidés par un mélange d'Hexane et de l'Isopropanol concentré (W/V : 1/1) (24 h, 25 °C). La matière délipidée a été récupérée après une filtration sous-vide.

2. Tandis que pour l'hydrolyse pepsique des deux co-produits, la déprotéinisation a été réalisé directement sur les broyats des co-produits de la crevette et du thon.

Avant les opérations d'hydrolyse, Les co-produits de thon et de crevette sont mis à décongeler toute une nuit dans un réfrigérateur à 4°C. Ils sont ensuite introduits dans un réacteur à double enveloppe et homogénéisée avec un volume d'eau distillé (agitation continue à 400 rpm). L'ensemble est chauffé à la température optimale d'activité de l'enzyme. Ensuite, le pH est

ajusté au pH d'activité optimale de l'enzyme, par addition de HCl 2N pour la Pepsine; ou par addition de NaOH 2N dans le cas de la Savinase.

Lorsque les conditions d'activité optimale (pH 2, 40°C et pH 8, 50°C respectivement) sont atteintes, l'enzyme est ajoutée. La quantité par rapport à la masse du substrat est de 0,3% pour les deux enzymes et l'hydrolyse dure six heures. Pendant l'hydrolyse, le pH est ajusté au pH d'activité optimale de l'enzyme par addition de HCl 2N pour la Pepsine, par addition de soude 2N pour la Savinase.

### **2.3.2 Arrêt de l'hydrolyse**

Après six heures de réaction, on arrête l'hydrolyse par inactivation de l'enzyme. Pour la Savinase, l'inactivation se fait par la chaleur. Pour ce faire, le bioréacteur est placé dans un bain marie de 80°C pendant 20 minutes. Pour l'hydrolyse en présence de Pepsine, l'arrêt de la réaction est effectué par neutralisation du milieu avec de la soude 5N.

### **2.3.3 Traitement des hydrolysats**

Après inactivation de l'enzyme et refroidissement de la préparation, cette dernière est centrifugée à 4 000 g pendant 40 minutes à 4°C dans une centrifugeuse (Hettich Rotina 380R, Suisse). Le surnageant, qui constitue l'hydrolysats protéique, d'une part, et le culot d'autre part, sont séparés dans des cristallisoirs préalablement pesés. Ensuite, ils sont congelés puis lyophilisés pendant 2 à 3 jours par le modèle Freeze Dryer Bk-Fd10s biobase biobase (shandong). Après lyophilisation, les cristallisoirs sont à nouveau pesés afin de calculer le rendement d'hydrolyse.

Les deux fractions lyophilisées, représentent d'une part, une fraction soluble (hydrolysats protéique : HPC / HPT) et une fraction insoluble donnant naissance à une substance dite chitine (qui sera traitée plus tard dans la partie II de ce chapitre) issue des co-produits de la crevette. Tandis que pour les co-produits de thon, cette fraction insoluble (culot) issue de l'hydrolyse enzymatique par la Pepsine, sera étudiée et utilisée en microbiologie comme source de protéines dans la préparation des milieux de culture (voir plus tard la partie III de ce chapitre). Tous ces lyophilisats sont ensuite broyés et conservés à -20 °C dans des flacons en plastique avant les analyses.

### 2.3.4 Calcul du degré d'hydrolyse

Le degré d'hydrolyse (DH) est estimée par le pourcentage du nombre de liaisons peptidiques coupées (h) par rapport au nombre de liaisons peptidiques totales ( $h_{tot}$ ) contenu dans les têtes de crevette. Il est obtenu par la formule :

$$\%DH = (h/h_{tot}) \times 100 \quad (II.1)$$

Où  $h_{tot}$  équivaut à 8,6 meq/kg de protéines (Adler-Nissen, 1986) et h correspond au nombre de liaisons peptidiques coupées pendant l'hydrolyse enzymatique.

Selon Adler-Nissen (1977), quand le pH réactionnel est au-dessus du pKa du groupement  $\alpha$ -NH<sub>2</sub>, le DH est obtenu suivant l'équation :

$$\%DH = (h/h_{tot}) \times 100 = (V N / \alpha h_{tot} M_P) \times 100 \quad (II.2)$$

Où V représente la quantité de base en ml ; N la normalité de la base ;  $\alpha$  le facteur de dissociation du groupement  $\alpha$ -NH<sub>2</sub> et  $M_P$  la masse de protéines en grammes.

Selon Zhao *et al.* (1996), quand le pH réactionnel est inférieur au pKa du groupement  $\alpha$ -NH<sub>2</sub>, le DH est obtenu suivant l'équation :

$$\%DH = (h/h_{tot}) \times 100 = (V N / (1 - \alpha) h_{tot} M_P) \times 100 \quad (II.3)$$

Où V désigne la quantité d'acide en ml et N la normalité de l'acide.

Le degré de dissociation  $\alpha$  est estimé suivant la formule :

$$\alpha = (10^{pH - pK}) / (1 + 10^{pH - pK}) \quad (II.4)$$

Le pK à différentes températures (Kelvin) est calculé selon l'équation suivante (Steinhardt et Beychock, 1964) :

$$pK = 8,7 + [2400 (298 - T) / (298 T)] \quad (II.5)$$

## 2.4 Analyses biochimiques

### 2.4.1 Matière humide

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).

$$H\% = \frac{M1 - M2}{M1 - M0} \times 100 \quad (\text{II.6})$$

*M0* : la masse en g de la capsule vide. *M1* : la masse en g de la capsule et les échantillons avant étuvage. *M2* : la masse en g de la capsule et les échantillons après étuvage.

#### 2.4.2 Teneur en cendres

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).

$$C\% = \frac{M2 - M0}{M1 - M0} \times 100 \quad (\text{II.7})$$

*Cendres %* est la teneur en cendres, *M0* le poids du récipient, *M1* et *M2* sont les poids avant et après incinération respectivement.

Pour s'affranchir de l'influence des conditions environnementales ( $T^\circ$ ), 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.

#### 2.4.3 Teneur en lipides

Les lipides sont extraits selon la méthode de Folch *et al.* (1957). Le solvant organique utilisé est un mélange de méthanol/chloroforme (1:2, v/v). L'échantillon à analyser et le solvant sont introduits dans un erlenmayer à hauteur de 1:20 (substrat solide/ volume en mL). Après 1 h d'agitation, le produit est filtré sous vide à travers un verre fritté d'indice 3. Le filtrat est introduit dans une ampoule à décanter. Du NaCl à 0,9 % (w/v) est ajouté à hauteur de 0,2 (v/v total). Le mélange décante jusqu'à l'obtention d'un système biphasique net. L'ampoule est dégazée plusieurs fois, puis la partie huileuse, située dans la phase inférieure, est versée dans un ballon préalablement pesé. Le contenu du ballon est distillé sous rotavapor, le poids du ballon est pesé, la teneur en lipides est calculée par la différence de poids.

$$\% \text{Lipides} = \frac{M2 - M1}{M0} \times 100 \quad (\text{II.8})$$

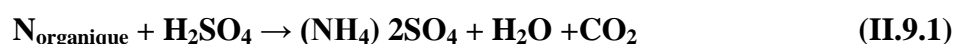
*Lipides%* est la teneur en lipides, *M0* le poids du ballon, *M1* est la prise d'essai et *M2* est le poids du ballon contenant les lipides séchés après l'extraction.

La phase huileuse séchée peut être conservée dans du chloroforme pour subir des analyses approfondies, sur la nature des acides gras qu'elle contient, en chromatographie.

#### 2.4.4 Teneur en protéines

La méthode de Kjeldahl (Crooke et Simpson, 1971) 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.

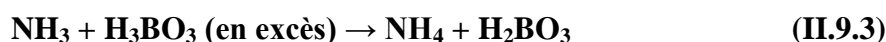
La première étape du dosage est la digestion acide, appelée également « minéralisation ». La prise d'essai est de  $4 \pm 1$  g (poids humide), pesée dans un tube à minéralisation. On y introduit alors 20 mL d'acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  à 96 %) et une pastille de  $\text{K}_2\text{SO}_4/\text{CuSO}_4$  (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  $\text{NH}_4^+$ , lesquels se lient aux ions sulfates  $\text{SO}_4^{2-}$ . Le reste de la matière est digéré sous forme de  $\text{CO}_2$  et  $\text{H}_2\text{O}$ . D'après l'équation (II.9.1), les espèces obtenues à l'issue de la réaction sont les suivantes:



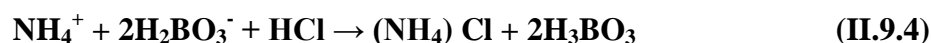
Un changement de couleur vers le vert pâle ou le bleu indique la fin de la réaction. L'étape dure 4 h. Elle est suivie d'une « neutralisation ». Après refroidissement, 20 mL d'eau distillée sont ajoutés pour stabiliser le milieu, puis suffisamment de NaOH 10 M pour atteindre un volume final de 80 mL. La forte alcalinité convertie l'ammonium en ammoniac gazeux :



Le tube est placé dans une unité de distillation. 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 :



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 qui vire au vert lorsque le pH est à l'équilibre. Le volume de HCl est alors identique à celui de  $\text{NH}_4^+$ :



Le pourcentage d'azote, %N, est donné par la relation :

$$\text{N}\% = \frac{1.4 * V}{M} \times 100 \quad (\text{II.9.5})$$

*V* est le volume de HCl versé (en mL), [*HCl*] sa concentration (généralement égale à 1 g/l), *M* est la masse d'échantillon introduite dans les tubes (en g) et 14 correspond à la masse atomique de l'azote. La relation intègre le facteur 0,1 qui comprend la conversion du volume de HCl en litre et la conversion en pourcentage.

Enfin, la teneur en protéines dans l'échantillon est déduite de la formule suivante:

$$\% \text{Protéines} = \text{K} * \text{N}\% \quad (\text{II.9.6})$$

*K* = Facteur de conversion de l'azote en protéine.  $K = 6.25 = 100/16$  (origine animale).

La teneur en azote dans les protéines a été estimée en moyenne à 16 %, ce qui correspond à un coefficient de conversion entre azote et protéines de 6,25. Bien que communément admis, ce coefficient est parfois contesté, notamment lorsqu'il est appliqué aux produits marins, ces derniers étant plus riches en azote. Le coefficient de conversion varierait de 6,25 à  $5,8 \pm 0,1$  (Gnaiger, 1984).

## 2.5 Pouvoir antioxydant des hydrolysats protéiques obtenues

### 2.5.1 Activité antioxydante totale (TAC)

La capacité antioxydante totale (TAC) des hydrolysats protéiques de la crevette et du thon (HPCS, HPCP, HPTS, HPTP) est évaluée par la méthode de phosphomolybdène (Prieto *et al.*, 1999; Dhinakaran et Gomathi, 2017; Hamdi *et al.*, 2018). Un volume de 0,1 mL de chaque solution d'hydrolysat protéique à différentes concentrations (0,5 à 5 mg/mL) a été mélangé avec 1 mL de solution du réactif (0,6 M d'acide sulfurique, 28 mM de phosphate de sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium). Ensuite, les tubes ont été incubés à 95 °C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions a été mesurée à 695 nm contre le blanc qui contient 1 mL de la solution du réactif et 0,1 mL d'eau distillée, puis il a été incubé dans les

mêmes conditions que l'échantillon. L'acide ascorbique a été utilisé comme témoin positif. Les expériences sont répétées 3 fois. L'activité antioxydante totale a été évaluée en tant qu'équivalents de  $\alpha$ -tocophérol par l'équation linéaire suivante:

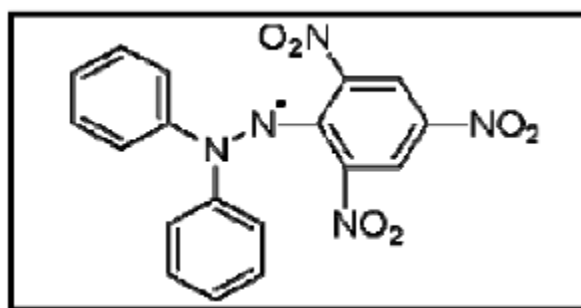
$$A = 0,011 C + 0,0049 ; R^2 = 0,987 \quad (\text{II.10})$$

Où  $A$  est l'absorbance à 695 nm et  $C$  la concentration en équivalents  $\alpha$ -tocophérol ( $\mu\text{mol/mL}$ ).

### 2.5.2 Capacité de piégeage des radicaux DPPH

Le potentiel antiradicalaire d'une substance peut être testé à l'aide d'une méthode colorimétrique en utilisant des radicaux tels que le DPPH. La méthode de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est une méthode simple, rapide et facile à mettre en oeuvre. Elle est utilisée par Dong-Sun (2001). Un radical libre est une espèce chimique possédant un électron célibataire sur sa couche périphérique. Dans les phénomènes de stress oxydant, les radicaux libres qui interviennent ont une propriété caractéristique commune, celle d'avoir un électron célibataire sur un atome d'oxygène (Gardès et Jore, 2005).

Le composé chimique DPPH (fig. 23) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydant des composés phénoliques (Blois, 1958; Brand-Williams et *al.*, 1995). Il possède un électron non apparié sur un atome du pont, d'azote (Popovici et *al.*, 2009).



**Figure 23.** Structure chimique du radical libre DPPH (Popovici et *al.*, 2009).

L'activité de piégeage des radicaux libres DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) des hydrolysats protéiques (HPCS, HPCP, HPTS, HPTP) a été déterminée selon la méthode de Bersuder *et al.* (1998) avec une légère modification. Un volume de 500  $\mu\text{L}$  de chaque hydrolysats protéiques à différentes concentrations (0,1 à 8 mg/mL) a été ajouté à 375  $\mu\text{L}$  d'éthanol absolu et 125  $\mu\text{L}$  de DPPH éthanolique (0,06 M). Le mélange a été laissé reposer à température ambiante et dans l'obscurité pendant 60 min. L'absorbance ( $A$ ) a été mesurée à 517 nm par un spectrophotomètre (JENWAY/ BUYNOW/ 6715B0), contre un blanc de contrôle qui contient 500  $\mu\text{L}$  d'eau distillée à la place de l'échantillon, puis il est incubé dans

les mêmes conditions que l'échantillon. L'acide ascorbique a été utilisé comme témoin positif. La capacité de piégeage des radicaux DPPH a été calculée comme suite :

$$\% \text{ activité de piégeage} = 100 \times [(A_{\text{contrôle}} + A_{\text{blanc}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{contrôle}}] \quad (\text{II.11})$$

Les composés antioxydants peut réduire le radical libre (DPPH•) selon la réaction suivante (Fig.24) :

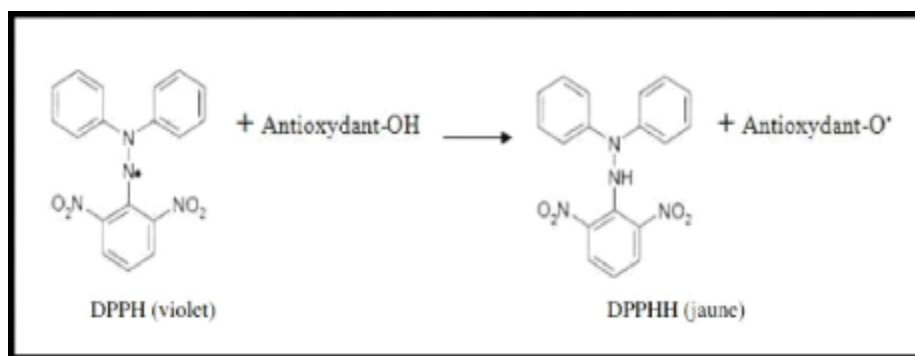


Figure 24. Réaction de test DPPH (Congo, 2012).

## 2.6 Activité antimicrobienne des hydrolysats protéiques

### 2.6.1 Souches microbiennes

Les activités antibactériennes des hydrolysats protéiques ont été testées contre des germes pathogènes Gram positive (*Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus cereus* (ATCC 11778) et *Enterococcus sp.*) et des bactéries Gram négatif (*Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella sp* et *Pseudomonas sp.*) et l'activité antifongique a été testée contre deux souches fongiques (*Aspergillus niger* (ATCC 16404) et *Candida albicans* (ATCC 10231)).

#### 2.6.1.1 Réactivation et purification des souches pathogènes

Les bactéries conservés sous glycérol à -20°C ont été réactivés en bouillon BHIB et incubés à 37°C pendant 24 H puisensemencés par la méthode d'épuisement de charge (méthode des quadrants) sur gélose Muller Hinton, et incubés ensuite à 37°C pendant 24 H pour s'assurer de leurs pureté.

#### 2.6.1.2 Conservation des souches pathogènes

Après purification, chaque souche a été conservée individuellement par deux méthodes :

- ✓ **Conservation de courte durée** : les souches pures étaient ensemencées dans des tubes de MH gélose inclinée, après incubation à 37 °C pendant 24h à 48 h ces tubes sont conservés à +4°C.
- ✓ **Conservation de longue durée** : les souches purifiées sont congelées à -20°C dans un bouillon de BHI (Réf. Cat14000, Laboratoire Conda S.A, Spain) contenant 20% de glycérol (450 µl BHIB, 50 µl d'une suspension bactérienne et 90 µl de glycérol). La culture peut être conservée plusieurs mois.

### 2.6.1.3 Le renouvellement et l'enrichissement des souches pathogènes

Le renouvellement et l'enrichissement est effectuée par ensemencement des souches pathogènes dans un bouillon de BHI à 37°C pendant 8 à 10 heures d'incubation avant chaque test d'antagonisme pour obtenir une culture jeune en phase exponentielle avec un nombre de 1,107 UFC/ml . Toutes les souches ont été cultivées au moins trois fois avant l'expérience.

### 2.6.2 Méthode de diffusion en puits AWDT

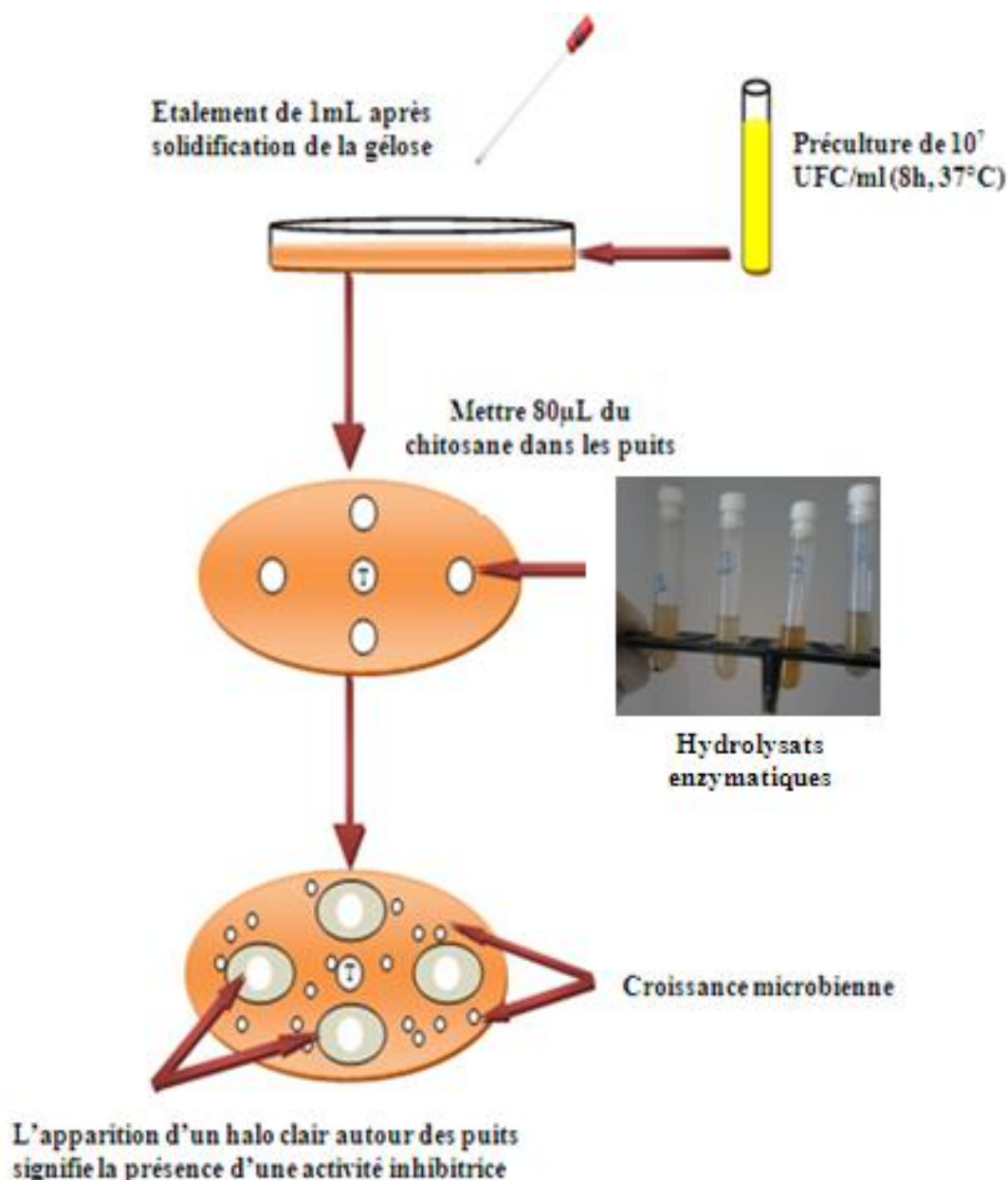
La méthode de diffusion très utilisée en microbiologie (antibiogramme et antifongogramme), repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu semi solide (gélose molle). L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition la souche du microorganisme sera qualifiée de sensible, d'intermédiaire ou de résistante. Dans la technique de diffusion il y a compétition entre la croissance du microorganisme et la diffusion du produit à tester (Broadsky et al., 1976).

L'activité antibactérienne des hydrolysats protéiques (HPCS, HPCP, HPTS, HPTP) a été testée contre des bactéries Gram positive (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Enterococcus sp.*) et des bactéries Gram négatif (*Escherichia coli*, *Klebsiella sp* et *Pseudomonas sp.*). L'activité antifongique a été testée contre deux souches de champignon (*Aspergillus niger* et *Candida albicans*) en mesurant la zone d'inhibition de croissance claire (en mm).

Le test d'activité antimicrobienne des hydrolysats protéiques a été réalisé selon la méthode de Barefoot et Kaenhammer (1983) ; Berghe et Vlieinck (1991), appelée aussi méthode de diffusion en puits (AWDT) (Fig.25). Les suspensions de culture des souches bactériennes et fongiques ont été bien étalées (1 mL) sur une gélose solidifiée Luria-Bertani (LB) et une

gélose à l'extrait de malt respectivement, et laissés reposer 10 min pour que la gélose absorbe la solution bactérienne. A l'aide d'un embout jaune stérile, quatre puits (de 6 mm de diamètre) sont creusés dans la couche d'Agar.

Ensuite, environ 100  $\mu\text{L}$  de chaque solution d'hydrolysats (de 5 mg/ml de concentration) a été chargé dans chaque puits. Les boîtes de pétri ont été conservées pendant 60 min à 4°C, puis, incubés pendant 24 h à 37 °C pour les souches bactériennes et à 30 °C pendant 3 à 5 jours pour les souches fongiques. L'activité antimicrobienne a été évaluée en déterminant les diamètres (en mm) de la zone d'inhibition de croissance nette autour des puits.



**Figure 25.** Mise en évidence de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion en puits (AWDT) (CA-SFM, 2015).

## 2.7 Analyse statistique

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne  $\pm$  erreur standard ( $M \pm \sigma$ ) et les résultats sont analysés statistiquement à l'aide du programme d'analyse de variance ANOVA avec LSD par le logiciel (STATISTICA 6,0) et le niveau de signification des données est pris avec la probabilité  $p \leq 0,05$ .

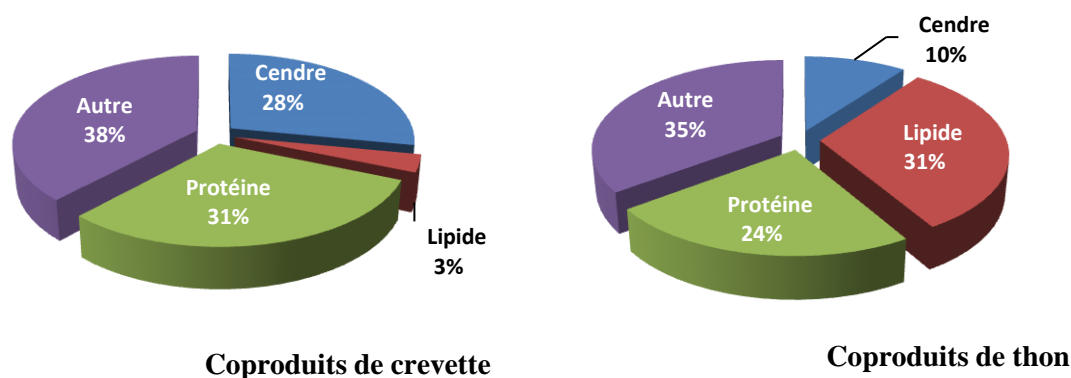
## 3. RESULTATS ET DISCUSSION

### 3.1 Composition biochimique des co-produits marins

L'analyse préliminaire des constituants des co-produits de la crevette rouge *A. antennatus* et de celle du thon rouge *T. thynnus* donne les résultats présentés dans le tableau 10 et figure 26.

**Tableau 10.** Composition biochimiques exprimé en (%) des co-produits de thon rouge et de la crevette rouge par rapport à la matière sèche.

| Composition (%)         | Matière sèche    | Cendre           | Lipides          | Protéines        |
|-------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Co-produits de thon     | 76,82 $\pm$ 1,56 | 10,15 $\pm$ 0,98 | 31,29 $\pm$ 1,31 | 23,34 $\pm$ 0,88 |
| Co-produits de crevette | 89,10 $\pm$ 0,09 | 28,09 $\pm$ 0,52 | 3,22 $\pm$ 2,04  | 30,63 $\pm$ 2,01 |



**Figure 26.** Distribution des composants biochimiques dans les co-produits de crevette rouge et de thon rouge (en %) par rapport au du poids sec.

Les résultats de la composition chimique des co-produits de la crevette rouge et de thon rouge ont été déterminés et reportés dans le tableau10. Concernant les co-produits de la crevette *A. antennatus*, les teneurs en protéines et en cendres étaient respectivement de 30,63  $\pm$  2,01% et 28,09  $\pm$  0,52% du poids sec. En fait, le carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ), un élément majeur des

carapaces de crevette, ainsi que d'autres crustacés, permettant la calcification de leur exosquelette, pourrait expliquer les teneurs élevées déterminées de minéraux. Ces résultats diffèrent de ceux obtenus par d'autres auteurs, les valeurs en cendres se rapprochent de celle obtenue par Le Roux (2012) et Randriamahatody et al, (2011) (24,2 et 24,29%) pour les espèces de crevette *Penaeus vannamei* et *Penaeus monodon* respectivement, alors qu'elle est très inférieure à la valeur obtenue par Hamdi (2018) (59%) pour le crabe bleue (*Portunus segnis*). Cependant, la composition biochimique de cette dernière en protéines et en lipides, reste plus pauvre par rapport à celle obtenue d'*A.antennatus*, de *P. vannamei* et de *P. monodon* (11,25 et 1,07% respectivement). La teneur la plus élevée en protéines (57%) a été relevée pour l'espèce *Penaeus monodon*.

De manière générale, les co-produits (carapaces) des crustacés, y compris les crevettes, possèdent une quantité mineure de lipides (entre 3 et 5% de matière sèche).

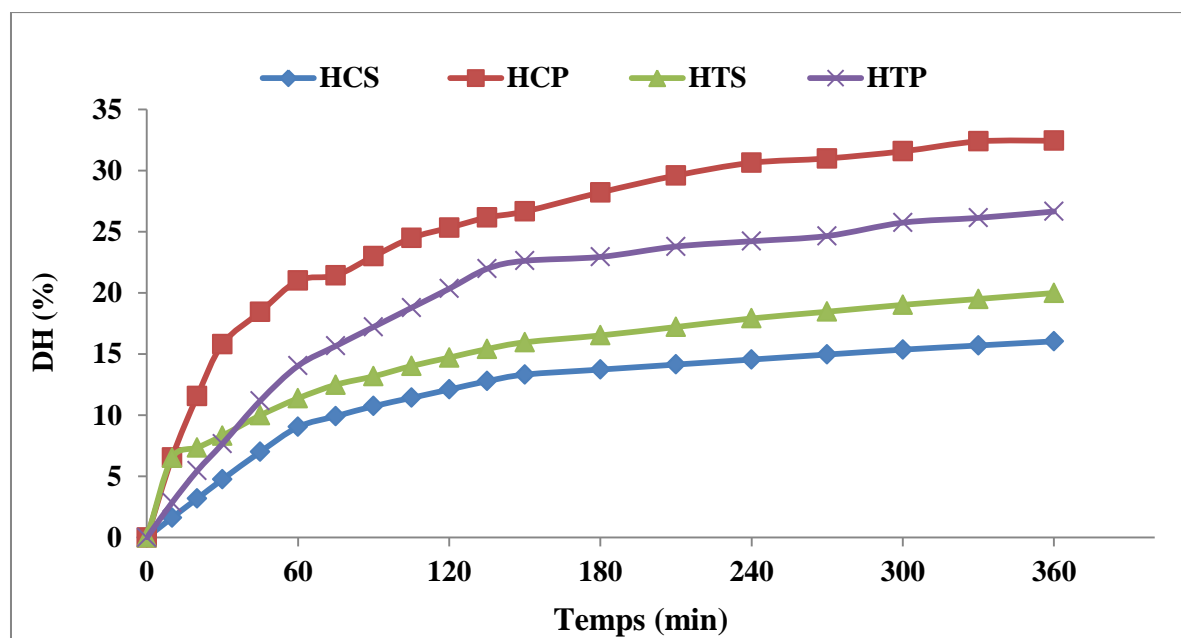
Cet état de fait, a été déjà signalé par d'autres auteurs Shahidi et al., (2003) ; Waldeck et al., (2006 ) et Kurita, (2006), qui ont souligné que les composants déterminées montrent une grande variabilité des proportions. Elles varient en fonction des espèces, de l'âge, du genre ...etc, dans une large gamme allant de 13 à 50% pour les protéines et de 15 à 70% pour les matières minérales (Kobelke, 1990), et peuvent fluctuer en fonction des saisons et des conditions environnementales.

A la lecture des résultats du tableau 10, il ressort que la composition biochimique en lipides pour les co-produits de thon rouge *T. thynnus* se rapproche de celle trouvée par Nguyen (2013) et Vlieg et Murray (1988) (32,92 et 35,05 %) dans les têtes de thon, *Thunnus albacares* pêché dans l'océan Pacifique et dans les têtes du thon *Thunnus alalunga* respectivement. Par contre, notre échantillon (thon rouge *Thunnus thynnus*) contient une faible quantité en protéines par rapport à celle trouvée chez le thon *T. albacares* et *T. alalunga* (36,09 et 50,25 % par rapport à la matière sèche).

En ce qui concerne les teneurs en cendres, le thon rouge *T. thynnus* présente une valeur proche de celle notée pour *T. alalunga* (14,69 %), mais la différence est beaucoup plus marquée pour le thon *T. albacares*, en présentant 28,78 % de matière minérale.

### 3.2 Cinétique des hydrolyses

Le degré d'hydrolyse (DH) se rapporte au pourcentage de liaisons peptidiques coupées durant l'hydrolyse. Les cinétiques qui traduisent l'évolution de ce DH en fonction du temps sont résumées dans la figure 27 et cela, pour les deux enzymes commerciales utilisées.



**Figure 27.** Cinétiques d'hydrolyse des co-produits de thon et de crevette avec les deux enzymes. **Sav.Ct** : hydrolyse de crevette par Savinase, **Pep.Ct** : hydrolyse de crevette par la Pepsine, **Sav.Th** : hydrolyse de crevette par Savinase, **Pep.Th** : hydrolyse de thon par la Pepsine.

L'allure générale de ces cinétiques est classique et s'apparente à celles décrites dans la littérature notamment pour des produits et co-produits marins: estomacs de thon (Guérard et al., 2001; Guérard et al., 2002), têtes et muscles de harengs (Liceaga-Gesualdo et Li-Chan, 1999; Sathivel et al., 2003), muscles de saumon (Kristinsson et Rasco, 2000a; 2000b), têtes de saumon (Gbogouri et al., 2004; Sathivel et al., 2005a), muscles de morue (Ravallec-Plé et al., 2000), têtes et viscères de sardine (Dumay, 2006; Souiss et al., 2007; Kechaou et al., 2009), estomac et intestin du requin (Abdelhedi et al., 2016), des gobies (Nasri et al., 2013; Lassoued et al., 2015), poisson australien (Klomklao, Kishimura et Benjakul, 2013), méditerranéennes rejetées (García-Moreno et al., 2014), daurade dorée (Wiriyaphan, 2015), crevette rose (Sila, 2015).

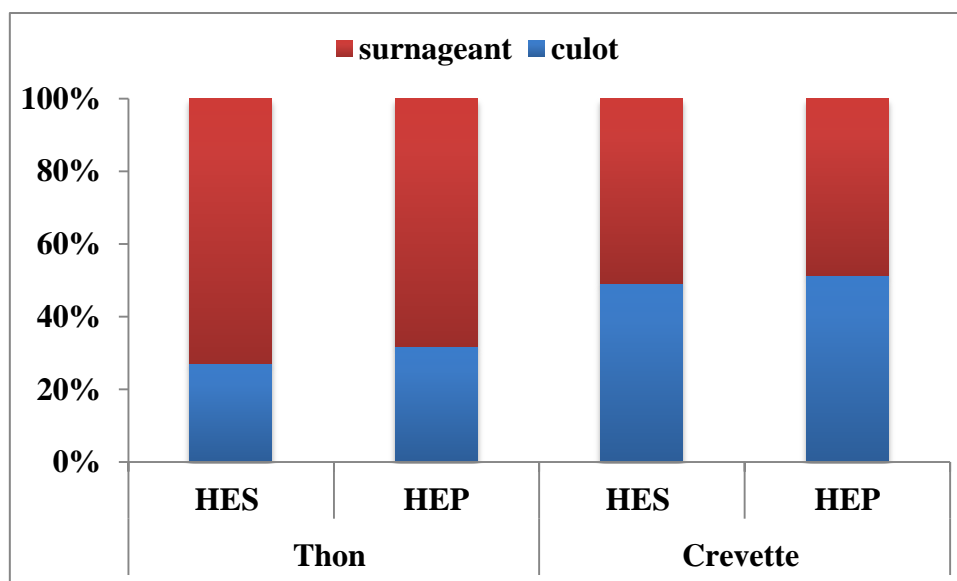
Durant les 360 min d'hydrolyse, les courbes montrent clairement 3 phases au cours de l'hydrolyse enzymatique : une phase un peu rapide dans la première heure pour les deux les

enzymes et les deux co-produits. Ensuite une phase ralentie qui persiste jusqu'à 150 minutes et un début de plateau qui vient après cette phase. La première phase correspond à la transformation rapide du substrat, résultant du ratio optimal enzyme/substrat, qui optimise la réaction enzymatique. Les deux phases qui suivent correspondent à la diminution de l'activité enzymatique suite à la réduction de la quantité de substrat, résultant par la suite le début de l'hydrolyse totale. L'hydrolyse enzymatique peut alors être considérée comme achevée lorsque ce plateau est atteint. Cependant, d'autres paramètres peuvent influencer sur cette cinétique. Par exemple l'augmentation de la teneur en peptides solubles dans le milieu réactionnel, peptides qui sont susceptibles d'agir comme des inhibiteurs de la réaction de protéolyse (Shahidi et *al.*, 1995; Souissi et *al.*, 2007).

Les valeurs maximales de DH atteintes au bout de 6 heures sont obtenues avec la Pepsine avec une valeur de 26,65% pour le thon et 32,43% pour la crevette. Suivies par une hydrolyse des co-produits de thon par l'enzyme Savinase (19,99%) et l'hydrolyse des co-produits de la crevette avec Savinase produit à un DH de 16,04% seulement. D'après Nguyen (2009), les variations entre les DH maximaux observés traduisent bien une forte influence de la nature du substrat, principalement par la nature protéique de leurs tissus. Le tableau 2 (Annexe II) nous montre quelque exemple des degrés d'hydrolyse maximaux obtenus sur des co-produits marins.

### **3.2.1 Solubilisation de la matière lors des hydrolyses**

La solubilisation de la matière est due à la digestion des substrats par les enzymes. Pour les hydrolyses enzymatiques des co-produits de la crevette et de thon, cette solubilisation est illustrée sur la Figure 28. Après seulement 6 heures d'hydrolyse enzymatique, presque de la moitié de la matière se retrouve solubilisée dans la phase aqueuse. Les deux enzymes utilisées présentent la même tendance à solubiliser la matière première pour les deux co-produits de thon et de crevette.



**Figure 28.** Solubilisation de la matière lors des hydrolyses enzymatiques de 6 heures des co-produits de crevette rouge et de thon rouge.

### 3.2.2 Composition des différentes fractions issues de l'hydrolyse

Tout naturellement, en utilisant des protéolyses, les fractions solubles sont majoritairement constituées de protéines (57,75 à 67,9 %), quels que soient la nature des co-produits hydrolysés (Tab.11et Fig. 29). Les résultats obtenus sur la composition des différentes fractions obtenues ont montré aussi une teneur en cendres élevée dans les surnageant que dans la fraction insoluble. En revanche, ces dernières, présentent des teneurs élevées en lipides.

D'après le tableau 11, la teneur en protéines dans la phase soluble obtenue avec hydrolyse en condition acide pour la crevette et celle obtenue avec hydrolyse en condition alcaline pour le thon (59,56% et 67,9%) sont les plus élevées et vice versa.

1) Les teneurs en protéines obtenues pour les co-produits de crevette suite à l'hydrolyse enzymatique en condition acide sont légèrement supérieures à celles rapportées par Randriamahatody et al (2011) dans les mêmes conditions acides pour les co-produits de crevette *Penaeus monodon* (48,12%). Contrairement à la recherche menée par Vieira *et al*, (2005), où de l'hydrolyse enzymatique en milieu acide de la crevette *M. amazonicum* résulte 40,1% de protéines par rapport à la matière sèche dans la phase soluble.

Alors que pour les hydrolyses effectuées en milieu alcalin, les valeurs obtenues dans cette étude, concernant les protéiques dans les deux phases solubles et insolubles, sont inférieurs aux valeurs mentionnées par Synowiecki et Al-Khateeb (2000) et Randriamahatody et al (2011)

(64,3% et 63,86 à 64,73%) par rapport à la matière sèche obtenue par hydrolyse de carapaces de crevette *Crangon crangon* et *Penaeus monodon* respectivement. D'après Randriamahatody et al (2011), plusieurs recherches ont été menées sur l'hydrolyse enzymatique des co-produits de crevette par Alcalase (Gildberg et Stenberg, 2001 ; Ruttanapornvareesakul et al., 2005) résultant des teneurs en protéines très élevées (86,0% et 89,8% à 91,0%) respectivement.

L'enzyme Pepsine conduit à la production d'un hydrolysats légèrement moins riche en protéines pour les co-produits de thon rouge, contrairement à l'utilisation de l'enzyme Savinase. Ainsi, l'hydrolysats présente des teneurs en protéines moindres à celles obtenues avec les têtes de thon jaune (*Thunnus albacares*) (72,1 %) (Nguyen 2009). Néanmoins, dans notre étude, la fraction insoluble obtenue est légèrement riche en protéine par rapport à celle issue de l'hydrolyse alcaline de (*Thunnus albacares*) (23,6 %). Dans cette étude, les taux de protéines son similaires aux valeurs citées par Jung et Kim, (2007) (63,9%) lors de l'hydrolyse pepsique des squelettes de hoki (*Macruronus novaezealandiae*). La composition en protéines des hydrolysats lyophilisés remportées par Abdelhedi et al, (2016) est largement supérieure avec des valeurs allant de 70% à 90% par rapport au poids sec de matière lyophilisée. Alors que nos valeurs restent supérieures à d'autre recherches effectuées sur l'hydrolyse enzymatique des poissons et des co-produits de poissons, déjà mentionnées auparavant, tel que (Liaset et al., 2002; Pastoriza et al., 2003; Aspino et al., 2005), qui ont eu des résultats faibles en protéine. Par exemple l'hydrolysats de tilapia *Oreochromis mossambicus*, obtenu avec l'Alcalase expose un taux de protéines de 49,6 % de la matière sèche (Abdul-Hamid et al., 2002).

2. D'après les résultats obtenus lors de cette étude, les hydrolyses enzymatiques effectuées par l'enzyme Pepsine, engendrent des fractions solubles plus riches en matière minérale par rapport à la matière première et aux fractions insolubles. Les meilleures teneurs en cendres des hydrolysats obtenues sont observées pour les co-produits de crevettes et de thon en condition acide (45,1% et à 22,13% du poids sec respectivement). La valeur en cendre (45,1%) est supérieure à celles reportées par (Ruttanapornvareesakul et al., 2005 ; Jung et Kim, 2007) lors de l'hydrolyse pepsique de crevette *Penaeus monodon* (41,1%), alors que la valeur (22,13%) est largement inférieur à celle obtenue, dans les mêmes condition d'hydrolyse, pour le poisson hoki (*Macruronus novaezealandiae*) (35,4%). Par contre, pour les hydrolyses effectuées en milieu alcalin (par Savinase), les résultats sont approximativement comparables à celles trouvées sur les crevettes (Ruttanapornvareesakul et al., 2005), sur les

poissons du genre carangue (Thiansilakul *et al.* 2007), et sur les co-produits de saumon (Gbogouri *et al.*, 2004) (de 23,86 à 28,62% ; 24,6% et 22,3% respectivement). Les taux élevés en cendres dans les deux fractions solubles et insolubles de l'hydrolyse pepsique des co-produits de crevette sont dû à l'étape de déminéralisation qui a précédé l'hydrolyse par Savinase. L'acidité favorise la solubilité des sels de calcium impliqués dans la structure des exosquelettes de crevette (Jung et Kim, 2007 ; Thiansilakul *et al.*, 2007 ; Nguyen, 2009). Les teneurs en matières minérales des hydrolysats issus d'hydrolyse des co-produits de thon rouge, dans les conditions alcalines, sont inférieures près de deux fois de moins que les valeurs rapportées par Nguyen (2009) sur les thons jaunes (*Thunnus albacares*) dans les mêmes conditions alcalines (23,7%). Les niveaux très élevés en matière minérale dans les hydrolysats que dans la matière première non digérée, est probablement dû à l'ajout de NaOH pendant la protéolyse afin de maintenir le pH constant (Nasri *et al.*, 2013).

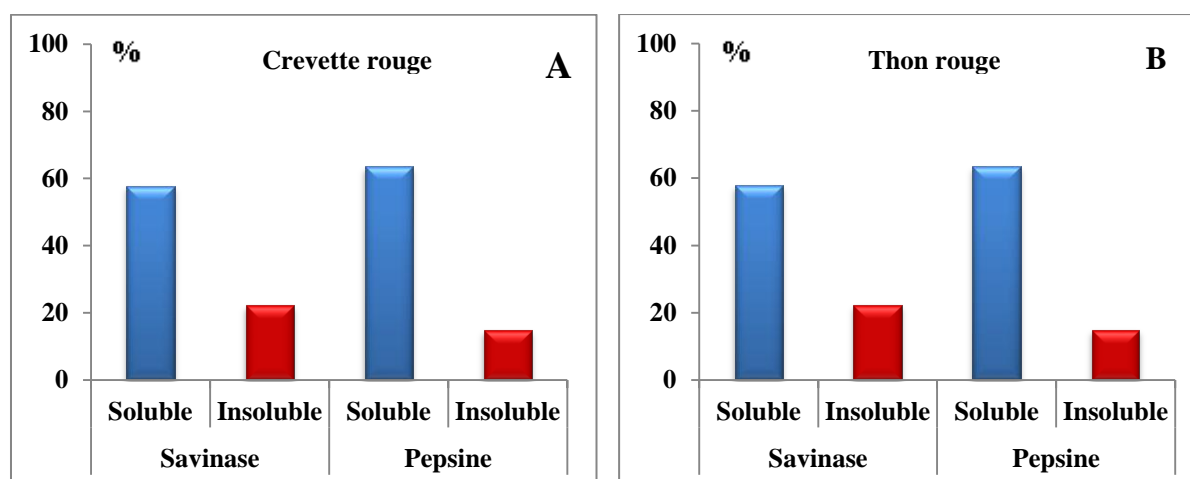
3. En ce qui concerne les lipides, les hydrolyses des co-produits de la crevette et de thon donnent naissance à des hydrolysats pauvres en lipides par rapport à la composition de la matière première. Leur teneur varie de 0,96% à 1,52% pour les co-produits de crevette et entre 8,98% à 20,12% pour les co-produits de thon. Les différences entre l'hydrolyse en milieu acide et celui en milieu alcalin sont dues à l'utilisation du mélange d'Hexane et de l'Isopropanol concentré (w/w, 200/200 mL) pendant 24 h (étape qui a précédé l'hydrolyse par Savinase) afin d'éliminer le maximum de matière grasse des co-produits de thon. Vu que cette opération n'a éliminé que 50% de lipide, alors cette dernière est dépassée pendant les autres hydrolyses.

En parlant des co-produits de crevette, les valeurs en lipides sont quasi similaires à celles obtenues pour les arêtes de saumon (Liaset *et al.*, 2003), pour les co-produits de hareng (Sathivel *et al.*, 2003) 1,6 % et de 0,4 à 1,5 % respectivement. Contrairement, aux résultats obtenus par Dumay (2006) sur les viscères de sardine (21%).

Cependant, dans la littérature, d'autres travaux sur les poissons gras, les hydrolyses, ont contribué à la solubilisation des lipides qui se sont retrouvés dans le surnageant (Bald *et al.*, 2004; Dumay *et al.*, 2006). Et que d'autres hydrolysats obtenus des co-produits de poisson présentent des teneurs faibles en lipides. On peut citer les co-produits de colin (Imm et Lee, 1999), de hareng (Liceaga-Gesualdo et Li-Chan, 1999; Sathivel *et al.*, 2003), de capelin (Shahidi *et al.*, 1995).

**Tableau 11.** Composition des différentes fractions des co-produits de thon et de la crevette après 6 h de protéolyse avec des enzymes commerciales exprimé en (%).

| Co-produits | Enzyme   | Fraction  | Cendre              | Lipide       | Protéine            |
|-------------|----------|-----------|---------------------|--------------|---------------------|
| Crevette    | Savinase | Soluble   | 12,38 ± 0,48        | 1,08 ± 0,09  | 57,75 ± 1,05        |
|             |          | Insoluble | 9,35 ± 1,13         | 1,32 ± 0,41  | 22,22 ± 0,98        |
|             | Pepsine  | Soluble   | <b>45,1 ± 1,04</b>  | 0,96 ± 0,04  | <b>59,56 ± 0,44</b> |
|             |          | Insoluble | 21,8 ± 0,24         | 1,52 ± 0,28  | 14,81 ± 1,22        |
| Thon        | Savinase | Soluble   | 14,55 ± 0,06        | 8,98 ± 0,06  | <b>67,9 ± 0,07</b>  |
|             |          | Insoluble | 10,09 ± 0,81        | 13,2 ± 0,78  | 30,62 ± 1,34        |
|             | Pepsine  | Soluble   | <b>22,13 ± 0,77</b> | 13,2 ± 0,61  | 62,41 ± 0,02        |
|             |          | Insoluble | 5,98 ± 2,1          | 20,12 ± 0,84 | 31,5 ± 0,88         |



**Figure 29.** Distribution des protéines dans les deux phases lors de différentes hydrolyses enzymatiques de 6 heures.

### 3.2.3 Composition en acides aminés des fractions solubles obtenues après hydrolyse des co-produits de thon et de crevette

Les hydrolysats ont été quantifiés par chromatographie en phase liquide haute performance (HPLC, de marque Shimadzu Prominence-i LC-2030C 3D) équipé d'une colonne RESTEK® (C8 25cm x 4.6mm ,5µm) avec un débit de 0,8 mL/min de la phase B : Methanol acide acétique (pH 3). Les résultats de la teneur en acides aminés (AA) ont été exprimés en mg de chaque acide aminé par g d'échantillon. La composition en acides aminés a été établie

uniquement pour les hydrolysats protéiques (HPT<sub>Al</sub>) et (HEC<sub>Ac</sub>) et les résultats sont présentés dans le Tableau 12.

Au premier regard des résultats, on remarque que la composition en acide aminé des hydrolysats de crevette (HEC<sub>Ac</sub>) est divisée en parts égales entre les acides aminés essentiels et non essentiels, contrairement aux hydrolysats de thon (HET<sub>Al</sub>) dont les acides (AANE) se représentent deux fois les acides (AAE).

La composition en acides aminés essentiels des (HEC<sub>Ac</sub>) est très importante que celle des (HET<sub>Al</sub>), elle représente respectivement 50,73% et 36,07% de la totalité des acides aminés. Les acides aminés essentiels majoritaires dans la fraction soluble (HEC<sub>Ac</sub>) sont : la phénylalanine (16,06%) suivie par leucine (11,23%), alors que la quantité faible des acides aminés pour les hydrolysats de thon (HET<sub>Al</sub>) est composée de : méthionine et thréonine (6,98 et 5,1 %). Les acides aminés (glycine, alanine et Serine) se retrouvent en concentration supérieure dans les hydrolysats de thon par rapport à celles de la crevette. L’histidine est l’acide aminé le moins présent dans les têtes de thon. Par ailleurs, la composition est bien riche en acides aminés exhausteurs de saveur (acide glutamique, acide aspartique, alanine et glycine) pour les deux hydrolysats étudiés, elle est en faveur des co-produits de thon par rapport aux co-produits de crevette.

**Tableau 12.** Profil en acides aminés des hydrolysats des co-produits de la crevette et de thon (HEC<sub>Ac</sub>, HET<sub>Al</sub>) (en mg/g du poids sec).

|            | <b>HEC<sub>Ac</sub></b> | <b>HET<sub>Al</sub></b> |
|------------|-------------------------|-------------------------|
| LEU        | 11,23                   | 4,9                     |
| PHE        | 16,06                   | 1,87                    |
| VAL        | 4,93                    | 2,76                    |
| LYS        | 4,7                     | 4,9                     |
| ILE        | 7,5                     | 3,1                     |
| THR        | 3,78                    | 5,1                     |
| HIS        | 2,1                     | 1,4                     |
| MET        | 6,24                    | 6,98                    |
| <b>AAE</b> | <b>56,54</b>            | <b>31,01</b>            |
| GLU        | 12,16                   | 10,26                   |
| ALA        | 6                       | 10,98                   |

**ALA** : Alanine ; **GLY** : Glycine; **VAL** : Valine; **LEU** : Leucine; **ILE** : Isoleucine ; **THR** : Thréonine ; **SER** : Serine ; **PRO** : Proline ; **ASP** : Acide aspartique ; **MET** : Méthionine ; **GLU** : Acide glutamique ; **PHE** : Phénylalanine ; **LYS** : Lysine ; **HIS** : Histidine ; **TYR** : Tyrosine. **AAE** Acides Aminés Essentiels ; **AANE** : Acides Aminés Non Essentiels.

**Suite tableau 12.** Profil en acides aminés des hydrolysats des co-produits de la crevette et de thon (HECAc, HETAi) (en mg/g du poids sec).

|             |             |              |
|-------------|-------------|--------------|
| ASP         | 13,4        | 3,8          |
| GLY         | 8,5         | 13,2         |
| PRO         | 10,4        | 8,6          |
| TYR         | 3,41        | 2,91         |
| SER         | 1,03        | 5,2          |
| <b>AANE</b> | <b>54,9</b> | <b>54,95</b> |
| AAE/AANE    | 1,03        | 0,56         |

**ALA** : Alanine ; **GLY** : Glycine; **VAL** : Valine; **LEU** : Leucine; **Ile** : Isoleucine ; **THR** : Thréonine ; **SER** : Serine ; **PRO** : Proline ; **ASP** : Acide aspartique ; **MET** : Méthionine ; **GLU** : Acide glutamique ; **PHE** : Phénylalanine ; **LYS** : Lysine ; **HIS** : Histidine ; **TYR** : Tyrosine. **AAE** Acides Aminés Essentiels ; **AANE** : Acides Aminés Non Essentiels.

À l'exception de la valine dans les hydrolysats de thon, les profils en AA pour les deux hydrolysats, ont montré un niveau élevé d'acides aminés hydrophobes (Ala, Gly, Val, Leu, Ile, Pro). Des travaux antérieurs avaient montré que la présence de résidus hydrophobes était responsable de l'augmentation du potentiel antioxydant (Moure, Dominguez et Parajo, 2006; Zhu, Chen, Tang et Xiong, 2008 ; Randriamahatody, 2012 ; Abdelhedi, 2016).

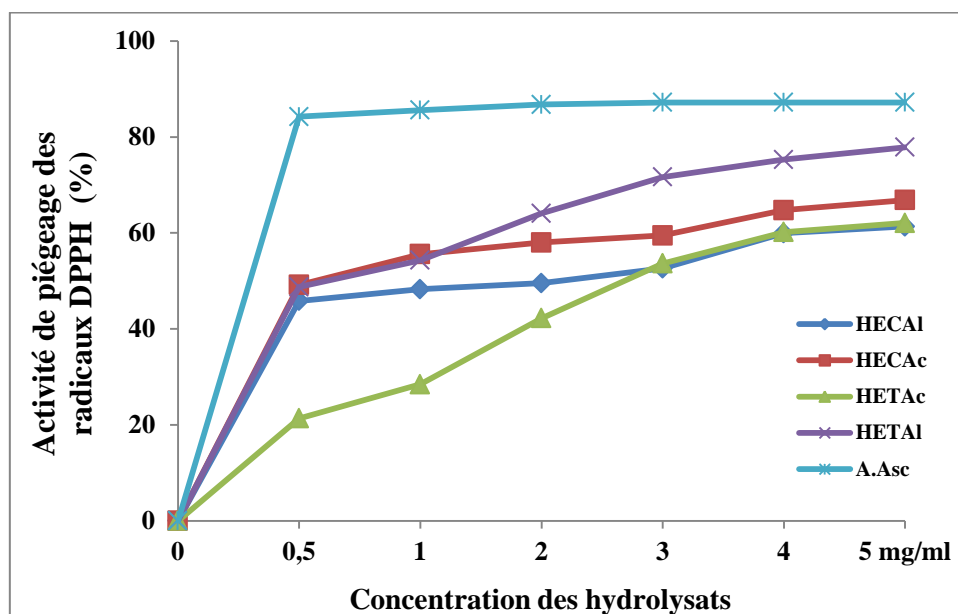
L'enrichissement des surnageants en acides aminés essentiels au cours d'une protéolyse n'est pas nouveau. Ainsi, cela a été déjà observé lors de l'hydrolyse des co-produits de calmar et de sardine (Gildberg et Stenberg, 2001 ; Plascencia-Jatomea et *al.*, 2002 ; Lian et *al.*, 2005, Kechaou et *al.*, 2009). Ainsi, il pourrait être noté que les (HET<sub>AI</sub> et HEC<sub>Ac</sub>) représentent une bonne source de peptides biologiquement actifs dans les formulations alimentaires fonctionnelles.

### 3.3 Identifications des propriétés fonctionnelles des hydrolysats protéiques

#### 3.3.1 Capacité de récupération des radicaux libres DPPH

L'activité de piégeage des radicaux libres DPPH a été largement utilisée pour étudier la capacité de composés à agir en tant que piègeurs de radicaux libres ou donneurs d'hydrogène. Comme indiqué sur la figure 30, tous les Hydrolysats ont présenté une bonne capacité de piégeage des radicaux de manière dépendante de la concentration. Cependant, les hydrolysats des co-produits de thon et de crevette (HET<sub>Ac</sub> et HEC<sub>AI</sub>) ont montré les activités de piégeage des radicaux les plus inférieures. Ces résultats sont conformes aux études précédentes rapportées par Lassoued *et al.* (2015) et Nasri *et al.* (2014) montrant que l'activité antioxydante augmentait avec la concentration.

Alors que les hydrolysats ( $\text{HET}_{\text{Al}}$  et  $\text{HEC}_{\text{Ac}}$ ) ont montré la capacité de piégeage des radicaux la plus élevée (77,84 et 66,83 % à 5mg/mL). Comparant à l'activité de piégeage des radicaux de l'acide ascorbique aux mêmes concentrations, les valeurs obtenues pour tous les hydrolysats sont considérablement inférieures. Les résultats obtenus indiquent que tous les hydrolysats contenaient certains peptides donneurs d'électrons et pouvaient réagir avec les radicaux libres pour les convertir en produits plus stables et mettre fin à la réaction en chaîne radicalaire (Wu, Chen et Shiau, 2003, Abdelhedi *et al.*, 2016).



**Figure 30.** Capacité de piégeage du DPPH (%) des hydrolysats à différentes concentrations.  $\text{HEC}_{\text{Al/Ac}}$  : Hydrolysats protéiques de crevette en condition alcaline/acide,  $\text{HET}_{\text{Al/Ac}}$  : Hydrolysats protéiques de Thon en condition alcaline/acide, **A.Asc** : Acide ascorbique.

### 3.4 Recherche des propriétés antibactériennes

Les résultats de l'évaluation de l'activité antimicrobienne des hydrolysats (HPT, HPC), préparés à une concentration de 5 mg/ml, testés en contact des bactéries alimentaires pathogènes (Gram+ et Gram-), et des fongiques, en mesurant la zone d'inhibition de la croissance nette (exprimée en mm), sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Selon les résultats de Barros *et al.*, (2007) sur des extraits méthanoliques de quelques champignons sauvages comestibles, la lecture des résultats d'inhibition bactérienne est interprétée comme suit :

- ✓ Diamètre inférieurs à 7 mm aucune activité antimicrobienne.
- ✓ Diamètre de 7 à 9,9 mm activités antimicrobiennes faibles.
- ✓ Diamètre de 10 à 11,9 mm activités antimicrobiennes modestes.
- ✓ Diamètre de 12 à 15 mm activités antimicrobiennes élevées.

**Tableau 13.** Résultats de la diffusion sur agar semi-solide par la méthode des puits AWDT (Culture bactérienne en surface) en contact avec les différents hydrolysats protéiques. HPC<sub>Al/Ac</sub>: hydrolysats protéiques de la crevette obtenue par digestion alcaline/acide, HPT<sub>Al/Ac</sub>: hydrolysats protéiques du thon obtenue par digestion alcaline/acide.

| Souches pathogènes           | Diamètre d'inhibition (mm) |                   |                   |                   |
|------------------------------|----------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|                              | HPC <sub>Al</sub>          | HPC <sub>Ac</sub> | HPT <sub>Al</sub> | HPT <sub>Ac</sub> |
| <i>Escherichia coli</i>      | <b>13,4 ± 0,3</b>          | 08,2 ± 0,1        | 08,3 ± 0,2        | <b>14,0 ± 0,0</b> |
| <i>Pseudomonas sp</i>        | 07,6 ± 0,4                 | 08,0 ± 0,5        | -                 | 08,0 ± 0,0        |
| <i>Klebsiella sp</i>         | 12,2 ± 0,0                 | <b>14,9 ± 0,0</b> | 06,0 ± 0,1        | <b>14,2 ± 0,0</b> |
| <i>Bacillus cereus</i>       | 12,5 ± 0,2                 | 07,5 ± 0,0        | <b>14,3 ± 1,0</b> | <b>18,1 ± 0,5</b> |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | -                          | 10,5 ± 0,0        | 06,3 ± 1,0        | -                 |
| <i>Enterococcus sp</i>       | -                          | -                 | -                 | -                 |
| <i>Aspergillus sp</i>        | -                          | -                 | -                 | -                 |
| <i>Candida albicans</i>      | -                          | -                 | -                 | -                 |

Comme le montre le tableau 13 tous les échantillons ont présenté différents degrés d'activité antibactérienne contre au moins une bactérie. L'hydrolysats protéiques issu de la protéolyse des co-produits de thon rouge en milieu acide, a montré l'effet d'inhibition le plus élevé contre la bactérie *Bacillus cereus* (18,1mm), contrairement à l'hydrolysats protéiques issu de la protéolyse des co-produits de crevette rouge en milieu acide (7,6 mm).

En fait, tous les hydrolysats ont montré un pouvoir non négligeable contre les bactéries à Gram+ contrairement aux bactéries à Gram-. Cependant, aucune activité antifongique n'a été détectée pour les tous les hydrolysats (HPC<sub>Al</sub>, HPC<sub>Ac</sub>, HPT<sub>Al</sub>, HPT<sub>Ac</sub>). Alors que les hydrolysats HPT<sub>Al</sub> ont montré une inhibition modérée de *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella sp*, suivie par les hydrolysats HPC<sub>Al</sub> contre *Pseudomonas sp* et HPC<sub>Ac</sub> contre *Bacillus cereus* avec des diamètres de zone claire pratiquement similaires.

En outre, quelque soit l'origine des co-produits, l'hydrolyse enzymatique en milieu acide (par la Pepsine) s'est révélée présenter une activité inhibitrice importante contre *Klebsiella sp* (de 14,2 à 14,9 mm). Et qu'aucun des échantillons n'a inhibé *Enterococcus sp*. Les travaux réalisés sur les co-produits de crevette *P. monodon* (Ruttanapornvaresakul, 2006) ont démontré que les hydrolysats obtenus par hydrolyse pepsique ont des activités antimicrobiennes similaires à nos travaux, notamment contre la bactérie *Staphylococcus aureus*. L'étude réalisée par Jemil et al., (2014) sur l'activité antibactérienne de quelques espèces marines : Sardinelle (*Sardinella aurita*), blennie zébrée (*Salaria basilisca*), gobie (*Zosterisessor Ophiocephalus*) et raie (*Dasyatis pastinaca*), était à l'opposé de nos résultats. Ces auteurs rapportent que les

bactéries à Gram négatif sont plus résistantes que les bactéries à Gram positif, sauf pour *E. coli*, qui a présenté une similarité inhibitrice (de 10 à 16 mm). (Jemil et *al.*, 2014). Les résultats obtenus couvrent une grande importance, en particulier pour *B.cereus* et *S. aureus*, qui sont bien connus pour leur résistance à un certain nombre de composés phytochimiques et pour la production de plusieurs types d'entérotoxines causant la gastro-entérite (Halpin-Dohnalek et Marth, 1989).

Suite aux résultats, les hydrolysats protéiques peuvent être considérés comme un agent de conservation naturel contre les agents pathogènes d'origine alimentaire dans l'industrie de la production alimentaire (Jemil et *al.*, 2014). Les différences détectées dans l'efficacité des différents hydrolysats sont principalement liées à leur composition peptidique (Ennaas et *al.*, 2015 ; Abdelhedi et *al.*, 2016). Par conséquent et selon les résultats, les hydrolysats protéiques peuvent présenter des propriétés non seulement nutritionnelles, mais aussi biologiques pour une application thérapeutique (Abdelhedi et *al.*, 2016).

## II.2 EXTRACTION ET PURIFICATION DE LA CHITINE ET DE CHITOSANE

### 1. Introduction

Ce chapitre a pour but d'apporter plus de valeur aux dérivés des co-produits de la crevette rouge *Aristeus antennatus*, issus des hydrolyses enzymatiques en milieu alcalin et acide.

Sachant que c'est plus de 60 % du poids de la crevette qui est rejeté. Des solutions actuelles sont utilisées pour la gestion des co-produits de crevettes qui résident en grande partie dans la transformation des carapaces en chitine (Muzzarelli, 1993 ; Nouri et al., 2016).

La chitine est le polymère actuellement le plus étudié, le deuxième composant très abondant dans la nature après la cellulose (Ravi-Kumar, 2000). En général, ces biopolymères sont facilement obtenus par hydrolyse chimique. Cependant, l'utilisation de ces produits chimiques peut provoquer une désacétylation partielle et une dépolymérisation de la chitine (Kumari et Rath, 2012).

Par ailleurs, d'autres méthodes plus douces sont utilisées, telles que la fermentation bactérienne ou la déprotéinisation enzymatique par des protéases (Maruthiah et al., 2015). Aussi, le chitosane offre des propriétés avec un grand potentiel pour de nombreuses applications industrielles (Suzuki et al., 1986 ; Shahidi et al., 1999 ; Kim et Rajapakse, 2005 ; Lopes et al., 2017). Il présente une activité antimicrobienne face aux différents groupes de microorganismes, bactéries (gram + et -), virus, champignons et levures (Sagoo et al., 2002 ; Rodriguez et al., 2003 ; Chien et Chou, 2006).

Dans ce chapitre, il s'agit de tester les dérivés des co-produits de la crevette, où les chitines sont comparées à d'autres chitines extraites par voie chimique. Ensuite la chitine est transformée par en chitosane par différentes désacétylation. Pour enfin, déterminer les propriétés biochimiques de ces polymères et étudier le pouvoir antibactérien et antioxydant des différentes chitosanes obtenues par les deux méthodes chimiques et enzymatiques.

## 2 Matériel et méthodes

### 2.1 Identification et préparation de la matière première

Les co-produits de la crevette utilisés lors de cette étude sont constitués principalement par les têtes (partie céphalothoracique) et les carapaces (partie abdomen) (Fig. 31). Un échantillon d'environ 186 individus (4 kg) a été prélevé dans le port de pêche de Mostaganem (Algérie). Les individus d'*Aristeus Antennatus* ont été décortiqués de leurs coquilles et têtes, dont ils représentent environs 31,2% du poids total échantillon. Ces co-produits ont été lavés à l'eau du robinet, séchés (à 25 °C) et broyés dans un broyeur (Waring Commercial Blender, USA).

Les poudres obtenues (entre 100 et 1000 µm de taille) ont été soigneusement collectées et maintenues à -20 °C jusqu'à leur analyse.



**Figure 31.** Aspect des co-produits de la crevette rouge (*A. antennatus*) issus de l'hydrolyse enzymatique (chitine).

## 2.2 Méthode d'extraction de la chitine

### 2.2.1 Extraction chimique de la chitine

De nombreuses méthodes ont été développées afin de préparer la chitine à partir des carapaces de crustacés. D'une manière générale, elles consistent à éliminer les minéraux (Déminéralisation), les protéines (déprotéinisation) et les pigments (blanchiment) (Hirano, 1989).

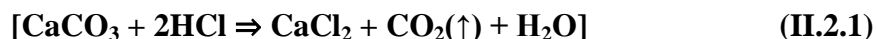
#### 2.2.1.1 Déminéralisation

La déminéralisation est généralement réalisée par un traitement acide 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 en poudre sont traitées avec HCl en différents dosages :

- ✓ Avec HCl 1N et avec un rapport du solide au solvant de 1:10 (p/v, g/mL) pendant 1 heure dans une chauffe ballon à 70°C (Kurita, 2006). Le produit ainsi obtenu est lavé plusieurs fois à la neutralité du pH, ensuite séché à l'étuve à 105°C pendant 48 h.
- ✓ Avec HCl 5N et le rapport du solide au solvant est de 1:10 (p/v, g/mL) sous-agitation pendant une nuit à température ambiante. Le produit ainsi obtenu est lavé par l'eau distillée plusieurs fois à la neutralité du pH.

Tout au long de ce 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 :



### 2.2.1.2 Déprotéinisation

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

- ✓ Avec NaOH à 2,5 N au ratio 1:10 (p/v, g/mL), c'est-à-dire le produit déminéralisé sec pour un volume de 10 fois de NaOH, chauffé pendant 06 heures à 70 °C dans un chauffe ballon (No and Meyers, 1995). Suivi par un lavage continu, afin d'éliminer la soude résiduelle, et ce jusqu'à ce que le pH de l'eau du lavage atteigne la neutralité. La chitine ainsi obtenu est séchée à l'étuve à 50°C pendant 24 heures.
- ✓ Avec NaOH à 1,25 N. Donc, sans passer par le séchage, le produit récupéré de la première étape de déminéralisation est ajouté à 100 mL de NaOH (1,25 N), sous agitation pendant 4 heures à température ambiante (Hamdi *et al*, 2017). Ensuite, filtrer et le retenu est lavé plusieurs fois jusqu'à ce que le pH de l'eau du lavage atteigne la neutralité. La chitine ainsi obtenu est séchée à 50°C.

### 2.2.1.3 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 (Onsoyen et Skaugrud, 1990). Le mélange est ensuite filtré et lavé plusieurs fois avec de l'eau distillée 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 final est de couleur légèrement brune. Cette étape est facultative pour éliminer les pigments, elle est réalisée seulement pour la chitine extraite par voie chimique dans les conditions suivantes : déminéralisation par HCL à 1N, déprotéinisation par NaOH à 2,5N.

### 2.2.2 Extraction enzymatique de la chitine

Cette partie a été déjà signalé, brièvement, auparavant dans la partie hydrolyse enzymatique des co-produits de la crevette, mais elle sera beaucoup plus détaillée dans cette deuxième partie. L'étape de déprotéinisation est réalisée par une hydrolyse enzymatique qui présente

l'avantage d'être la méthode la plus douce que l'hydrolyse chimique, elle permet d'obtenir une bonne qualité du produit final (chitine et chitosane) afin de l'utiliser plus tard en alimentation (Nguyen, 2009). Pour cela, deux enzymes Alcaline et acide ont été utilisées : Savinase (EC 3.4.21.14) et Pepsine (EC 3.4.23.1).

### **2.2.2.1 La déminéralisation**

Les carapaces en poudre sont traitées en trois bains avec HCL 0,55 M et avec un rapport du solide au solvant de 1:10 (p/v, g/mL), c'est-à-dire 50 g de carapaces en poudres pour 500 mL de solvant, pendant 30 min à 4°C. Le produit ainsi obtenu est lavé plusieurs fois à la neutralité du pH, ensuite séché à l'étuve à 45°C pendant une nuit.

### **2.2.2.2 La déprotéinisation**

**2.2.2.2.1 Protéase alcaline :** Le produit déminéralisé est introduit dans un réacteur à double enveloppe et homogénéisé avec d'eau distillé dans un rapport 1/10 (p/v, g/mL). Lorsque les conditions à l'intérieure du réacteur sont maintenues pendant 20 min à 50°C, pH 10, avec du NaOH (4 N), l'enzyme Savinase est ajoutée à raison de (0,3%). L'hydrolyse est alors réalisée pendant 03 heures sous agitation en maintenant le pH 10. L'activité enzymatique est inactivé par la chaleur dans un bain marie de 85°C pendant 20 minutes.

**2.2.2.2.2 Protéase acide :** Les co-produits sont homogénéisés avec de l'eau distillé dans un rapport 1/5 (p/v, g/mL) dans un réacteur à des conditions de 40°C et le pH à 2 est maintenues pendant 20 min avec du HCl (2N). Pour ensuite, l'enzyme Pepsine est ajoutée à raison de (0,3%). L'hydrolyse est alors réalisée pendant 03 heures sous agitation en maintenant le pH à 2. L'activité enzymatique est inactivée à la neutralité du milieu en ajoutant NaOH (5N).

Les solutions obtenues sont alors centrifugées (4000g, 4°C, 30 minutes) afin de récupérer d'une part le surnageant (fraction protéique soluble) et le culot (fraction insoluble). Ces fractions sont ensuite lyophilisées et conservées à 4°C pour analyse.

## 2.3 Méthode d'extraction du chitosane

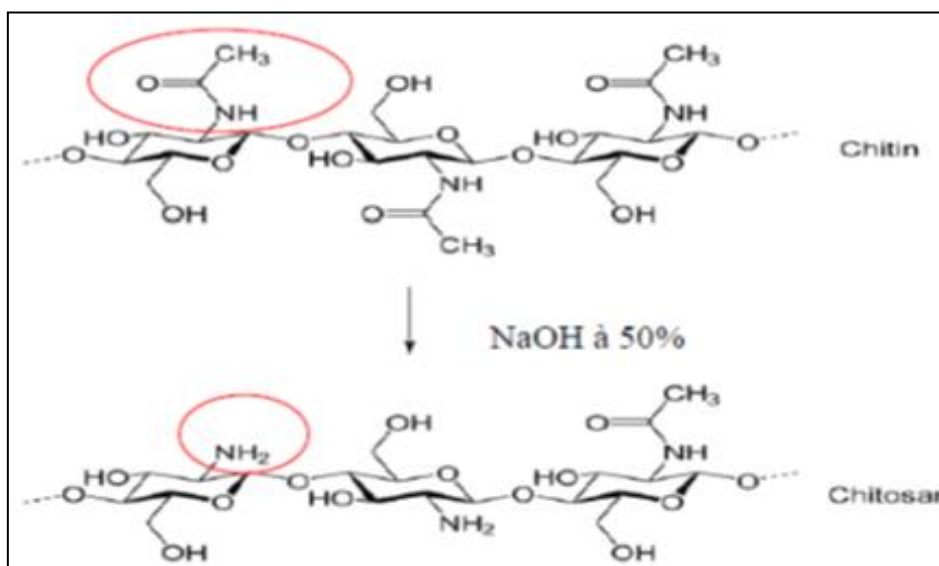
### 2.3.1 Extraction chimique

Des traitements acides et basiques sévères catalysent la désacétylation (Gizatulina, 2005) et aboutissent au chitosane (fig. 32). Le chitosane est obtenu par désacétylation de la chitine par différentes méthodes :

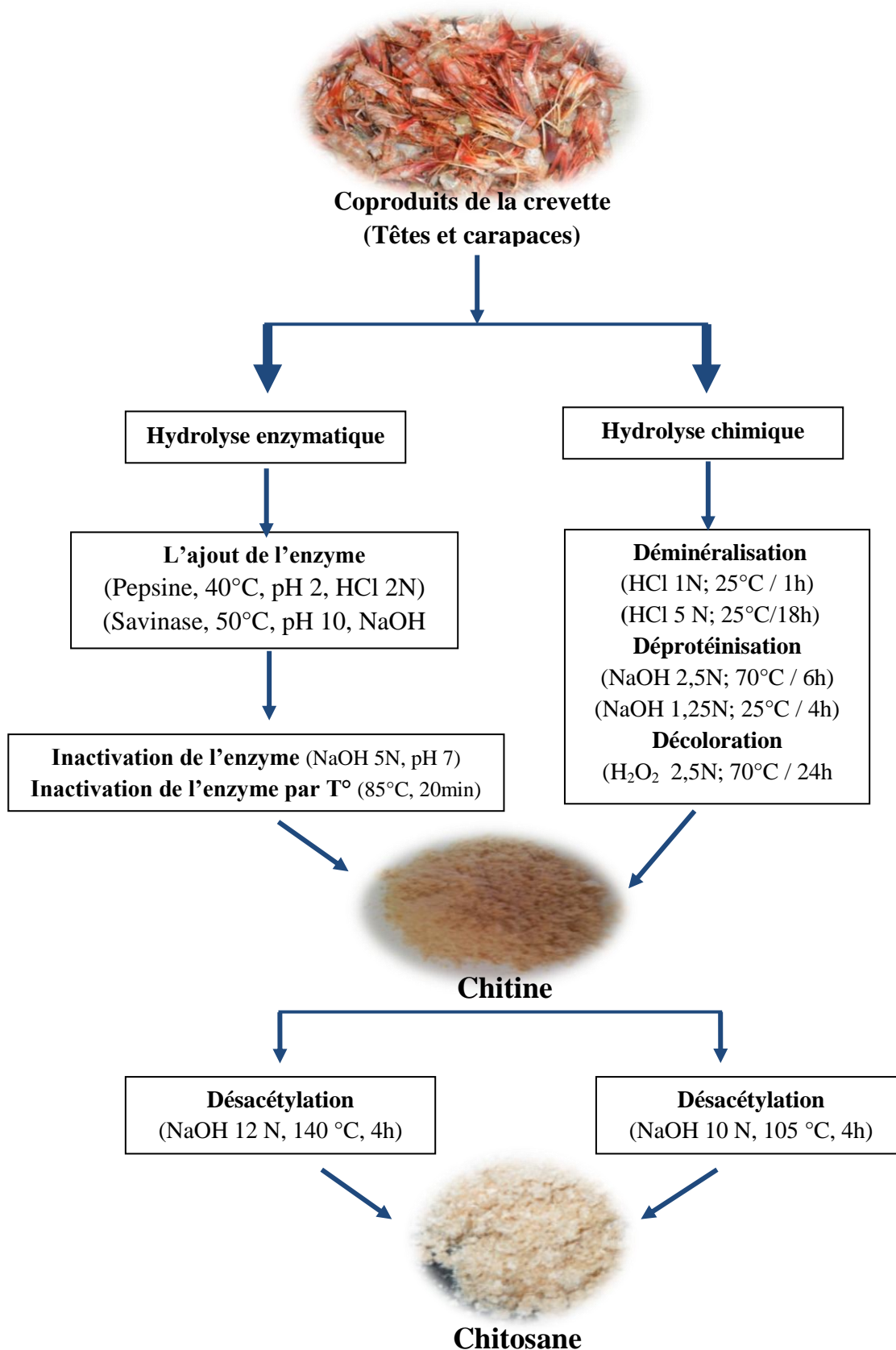
- ✓ Par chauffage à 105 °C, dans une solution de NaOH concentrée à 10 N, selon un ratio de 1/20 (p/v, g/mL), pendant 4 heures. (Yen *et al*, 2009).
- ✓ Dans un bain d'huile à (130 - 140 °C), la chitine est traitée avec une solution de NaOH concentrée à 12 N, selon un ratio de 1/20 (p/v, g/mL), pendant 4 à 6 heures (Onsoyen et Skaugrud, 1990).

Le chitosane produit est ensuite filtré et lavé afin d'éliminer la soude résiduelle et ce jusqu'à ce que le pH de l'eau du lavage atteigne la neutralité, puis étuvé à 50 °C pendant 12 heures (Youcefi et Riazi, 2012).

La figure 33, présente un schéma récapitulatif de l'extraction des molécules : chitine et chitosane par les deux voies chimiques et enzymatiques.



**Figure 32.** Le chitosane, polymère dérivé de la chitine par désacétylation (Devin, 2015).



**Figure 33.** Les étapes d'hydrolyse chimique et enzymatique de la chitine et du chitosane issus des crevettes rouges.

### 2.3.2 Calcul des degrés de déprotéinisation et de déminéralisation

Les degrés de déprotéinisation (DP) et déminéralisation (DM), exprimés en pourcentage, sont calculés par les équations suivantes (Rao *et al.*, 2000) :

$$\text{DP} = 100[(P_0 M_0) - (P_r M_r)] / (P_0 M_0) \quad (\text{II.2.2})$$

$$\text{DM} = 100[(A_0 M_0) - (A_r M_r)] / (A_0 M_0) \quad (\text{II.2.3})$$

Où :  $M_0, M_r$  : Masse initiale et résiduelle du produit  $P_0, P_r$  : taux de protéine initiale et résiduelle du produit.  $A_0, A_r$  : taux de cendre initiale et résiduelle du produit.

### 2.3.3 Degré d'acétylation (DA) du chitosane

La chitine et le chitosane sont principalement caractérisés par leur degré d'acétylation (DA). Le degré d'acétylation présente le taux du groupe acétylé par rapport au groupe non acétylé. De nombreuses méthodes sont proposées afin de déterminer le DA sur des échantillons solides: la spectroscopie IR (Brugnerotto *et al.*, 2001), l'analyse élémentaire (Kasaai *et al.*, 2000), la RMN solide (Heux *et al.*, 2000), ou sur des échantillons en solution: dosage UV (Maghami et Roberts, 1988), titrage colloïdal (Chen *et al.*, 1997), RMN liquide (Yang et Montgomery, 2000).

Le degré d'acétylation (DA) est le pourcentage d'unités acétylées par rapport au nombre d'unités totales, il peut être déterminé par un titrage à partir d'une base forte. La frontière entre chitosane et chitine correspond à un DA de 50%, en deçà le composé est nommé chitosane et au-delà, chitine. Le chitosane est soluble en milieu acide contrairement à la chitine qui est insoluble. Il est important de faire la distinction entre degré d'acétylation (DA) et le degré de déacétylation (DD). L'un étant à l'inverse de l'autre c'est-à-dire que le chitosane ayant un DD de 85% possède 15% de groupements acétylés et 85% de groupements amines sur ses chaînes entre chitosane et chitine correspond à un DA de 50%.

#### ✓ Protocole

On prend 0,1g de notre échantillon (poudre de chitosane aussi pour la chitine) et déposer dans un bécher. Ajouter un volume de 25 mL de solution de HCl (0,06N). Poser le mélange sous agitation à température ambiante durant une heure, ensuite on ajuste avec l'eau distillé à 50 mL, avec la solution NaOH (0,1N) jusqu'à un pH= 3,75 et on prend le premier volume  $V_1$ , il faut continuer à titrer jusqu'à un pH de 8 est mentionner le deuxième volume  $V_2$ .

$$Q = (V_{\text{NaOH}} \times 0,1) / (1000 \times \text{Mcs}) \quad (\text{II.2.4})$$

$Q$  = nombre de moles de la fraction aminée du chitosane pour un échantillon de 1g.  $\text{Mcs}$  : masse sèche de chitosane dans la prise d'essai, en g.  $V_{\text{NaOH}} = V_2 - V_1$  = volume versé en ml de NaOH 0,1M entre pH 3,75 et pH 8.

$$\text{DA} = (1-161 \times Q) / (1+ 42 \times Q) \quad (\text{II.2.4.1})$$

$$\text{DD} = (161,16 \times V_{\text{NaOH}} \times N_{\text{NaOH}}) / \text{Mcs} \quad (\text{II.2.4.2})$$

Et concernant la chitine et par même principe :

$$\text{DD} = (203,1925 \times V_{\text{NaOH}} \times N_{\text{NaOH}}) / \text{Mcs} \quad (\text{II.2.4.3})$$

$$\text{DA} = 100 - \text{DD} \quad (\text{II.2.4.4})$$

### 2.3.4 Teneur en chitines

De nombreuses méthodes de quantification de la chitine ont été développées. La plus répandue, dite de gravimétrie, consiste à éliminer de l'échantillon tout autre composé que la chitine, par traitement chimique (Black et Schwartz, 1950). La masse de chitine est calculée par différence de poids entre l'échantillon initial et l'échantillon « nettoyé ».

D'autres méthodes sont évoquées par la littérature (Muzzareli, 2003). Cependant, elles ont été abandonnées au cours du temps. Elles font appelle soit à la colorimétrie (dosage des osamines, méthode peu reproductible et de faible recouvrement), soit au dosage de l'acide acétique, qui est libéré lors de l'hydrolyse de la chitine (Holan, Votruba et Vlasakova, 1980).

### 2.3.5 Solubilisation du chitosane

La solution du chitosane est préparée en dissolvant 03 g du chitosane en poudre dans 125 mL d'acide acétique (1%), sous agitation constante pendant 12 h à température ambiante jusqu'à sa solubilisation.

La solubilité du chitosane a été déterminée selon la méthode de Fernandez-kim (2004). La poudre de chitosane (0,1 g) a été placée dans un tube (poids connu) puis dissoute avec 10 mL d'acide acétique à 1% pendant 30 minutes avec agitation continue. La solution a ensuite été immergée dans un bain d'eau bouillante pendant 10 minutes, refroidie à température ambiante et centrifugée à 10000 tr/min pendant 10 minutes. Les particules non dissoutes ont été lavées dans de l'eau distillée (25 mL) puis centrifugées à 10000 tr/min. Le surnageant a été retiré et les pastilles non dissoutes ont été séchées à 60°C pendant 24 heures. Finalement, les particules ont été pesées et le pourcentage de la solubilité du chitosane a été déterminé.

La solubilité du chitosane a été calculée en utilisant l'équation suivante:

$$\text{Solubilité\%} = 100 (W_1 - W_2) / (W_1 - W_0) \quad (\text{II.2.5})$$

Où  $W_0$  : poids initiale du tube,  $W_1$  : poids du tube avec chitosane,  $W_2$  : poids du tube avec chitosane finale.

## 2.4 Composition biochimique

La teneur en eau a été déterminée selon la méthode 950.46 (AOAC, 1990) de l'Association des chimistes analytiques officiels (AOAC): séchage de l'échantillon dans un four à 105 °C jusqu'à obtention d'un poids constant. La teneur en protéines brutes a été déterminée selon la méthode AOAC 970.42 (AOAC, 1990) et un facteur de conversion de 6,25 a été utilisé pour convertir l'azote total en protéines brutes. La graisse a été déterminée selon la méthode AOAC 960.39 (AOAC, 1990). La cendre a été déterminée selon la méthode AOAC 920.153 (AOAC, 1990): incinération dans un four à moufle à 550° C pendant 24 h. Tous les résultats ont été présentés sur base sèche. (Voir plus de détails en sous-chapitre précédent).

## 2.5 Activité antioxydante du chitosane

### 2.5.1 Capacité de piégeage des radicaux DPPH

L'activité du balayage du radical DPPH a été mesurée selon le protocole décrit par (Lopes-Lutz et al., 2008). C'est un protocole qui diffère un peu de la méthode décrite précédemment (1<sup>er</sup> sous-chapitre). Dans des tubes on introduit 2,5 ml de solution chitosane (à 3% de concentration) et 1ml de la solution méthanolique au DPPH (0,3 mM), Ces mélanges sont fortement agités pendant 15s par un vortex, les tubes sont placés à l'obscurité à température ambiante pendant 30 minutes. La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm contre un blanc constitué par du méthanol pur (Shimada et al., 1992). Un témoin de 1mL de la solution méthanolique au DPPH (0,3 mM) a été préparé. Et dont les résultats vont être exprimés selon la formule de Yamaguchi et al. (1998):

$$\% \text{ d'inhibition des radicaux libres} = [1 - (\text{Abs}_{\text{échantillon}} / \text{Abs}_{\text{témoin}})] \times 100 \quad (\text{II.2.6})$$

### 2.5.2 Capacité antioxydante totale (TAC)

La capacité antioxydante totale du chitosane est évaluée par la méthode au phosphomolybdène. Ce protocole est déjà décrit dans la première partie de ce chapitre.

## 2.6 Activité antimicrobienne

L'étude de l'activité antibactérienne du chitosane a été réalisée par plusieurs méthodes :

- ✓ Méthode de diffusion en puits AWDT (Agar well Diffusion Test) : le protocole réalisé sur les quatre chitosanes obtenus par hydrolyse enzymatique et chimique. le test de diffusion en puits a été déjà expliqué précédemment (voir Chapitre II, partie 1)

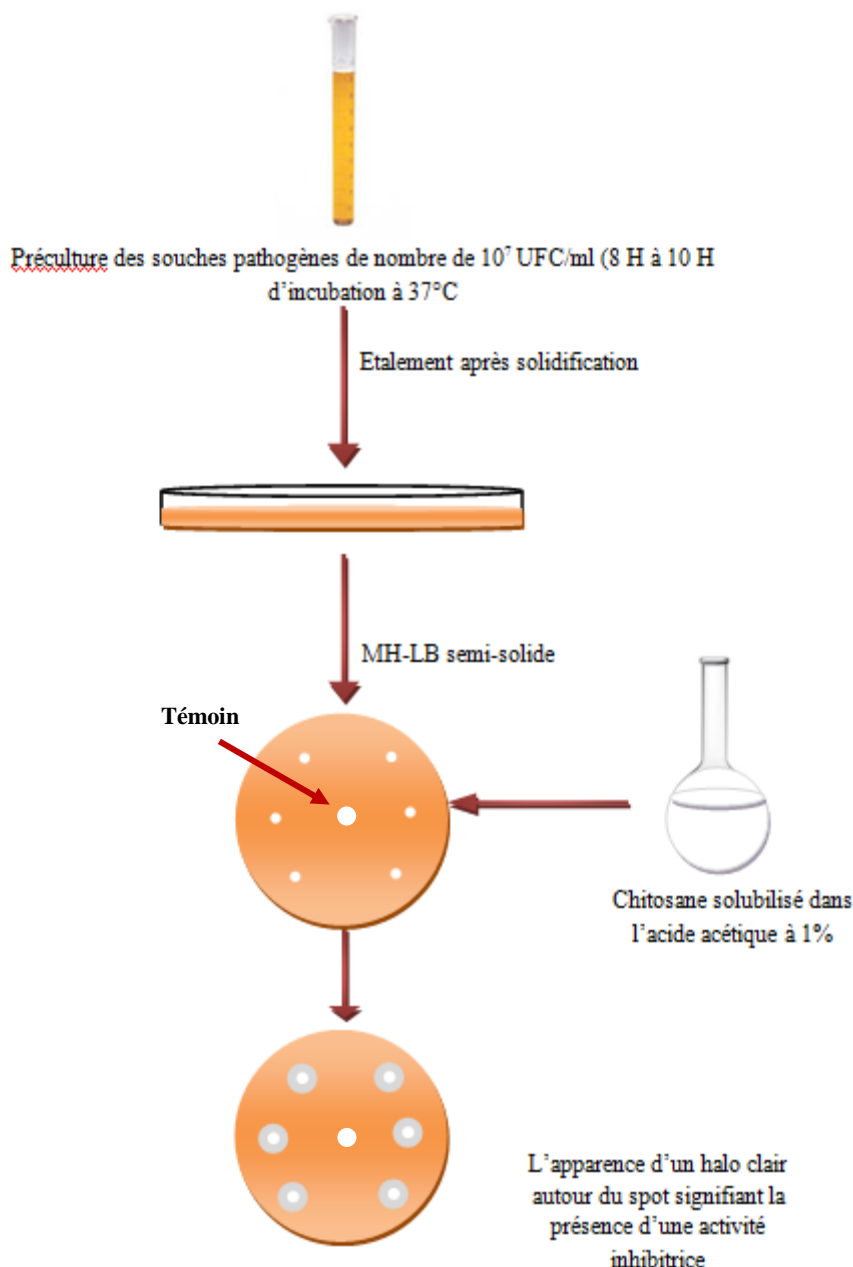
Les activités antimicrobiennes des chitosanes ont été testées contre des germes pathogènes Gram positive (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Enterococcus sp.*) et des bactéries Gram négatif (*Escherichia coli*, *Klebsiella sp* et *Pseudomonas sp.*) et l'activité antifongique a été testée contre deux souches fongiques (*Aspergillus niger* et *Candida albicans*).

Les tests qui suivent vont être appliqués uniquement sur un seul chitosane (C.HE<sub>Ac</sub> : chitosane obtenu de l'hydrolyse enzymatique de la chitine en condition acide :

- ✓ Méthodes des spots.
- ✓ L'évaluation de la cinétique de croissance des souches pathogènes en présence du chitosane par deux méthodes : le dénombrement des souches et la densité optique.

### 2.6.1 Diffusion sur agar semi-solide par méthode des spots

Pour ce test on a utilisé notamment deux souches, *Escherichia coli* (Gram négatif) et *Staphylococcus aureus* (Gram positif). Une culture jeune de ces deux souches avec une charge de 10<sup>7</sup> UFC/ml (préculture jeune de 8 heures d'incubation à 37°C) est étalée sur une gélose Muller Hinton semi-solide, le chitosane est ensuite déposé sur ce tapis sous forme de spots de 80 µl à l'aide d'une micropipette (6 spots pour chaque boîte) (Tagg *et al*, 1976 ; Riley et Chavan, 2007) (fig. 34). Un spot de bouillon BHIB stérile sert comme un témoin négatif, ensuite l'incubation des boîtes se fait à 37°C en aérobiose pendant 18 à 24 heures. Après incubation, les boîtes sont examinées pour les zones d'inhibition. Le pouvoir antagoniste est exprimé par la moyenne de trois diamètres perpendiculaires (Ababsa, 2012). Pour tous les tests d'antagonisme, les diamètres des zones d'inhibition apparaissant autour des spots seront mesurés, le résultat est positif si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur de 2 mm (Tabak *et al*, 2007).



**Figure 34.** Mise en évidence de l'activité antimicrobienne par la méthode des spots.

### 2.6.2 Cinétique de croissance bactérienne mises en contact avec le chitosane

Les souches ont été inoculées dans 15 ml de bouillon BHI, avec 1666  $\mu\text{l}$  du chitosane en solution (3% de concentration), une série des dilutions ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ .... $10^{-6}$ ) dans 450  $\mu\text{l}$  de BHIB a été réalisée (fig. 35), ensuite pour la réalisation de ce protocole, chaque boîte contient MH solide est divisée en trois parties, à l'aide d'une micropipette chaque partie d'une boîte de pétrie reçoit exclusivement 3 gouttes de l'une des différentes dilutions de 10  $\mu\text{l}$  pour chaque spot. Après avoir déposé les différentes dilutions dans toutes les boîtes, on incube le tout dans l'étuve à  $37^\circ\text{C}$  pendant 24h à 48h (Guiraud, 1998).

Les colonies présentes sur les boîtes sont dénombrées après 24 à 48 h d'incubation à 37 °C. Uniquement les boîtes contenant 30 à 300 colonies ont été dénombrées, on utilise pour calculer le nombre UFC (Unités Formant Colonies) / mL la formule suivante :

$$N = \Sigma \text{ colonies} \times 30 \mu\text{l} / 1000 \mu\text{l}$$

Où ; N : Unité Formant Colonies (UFC)

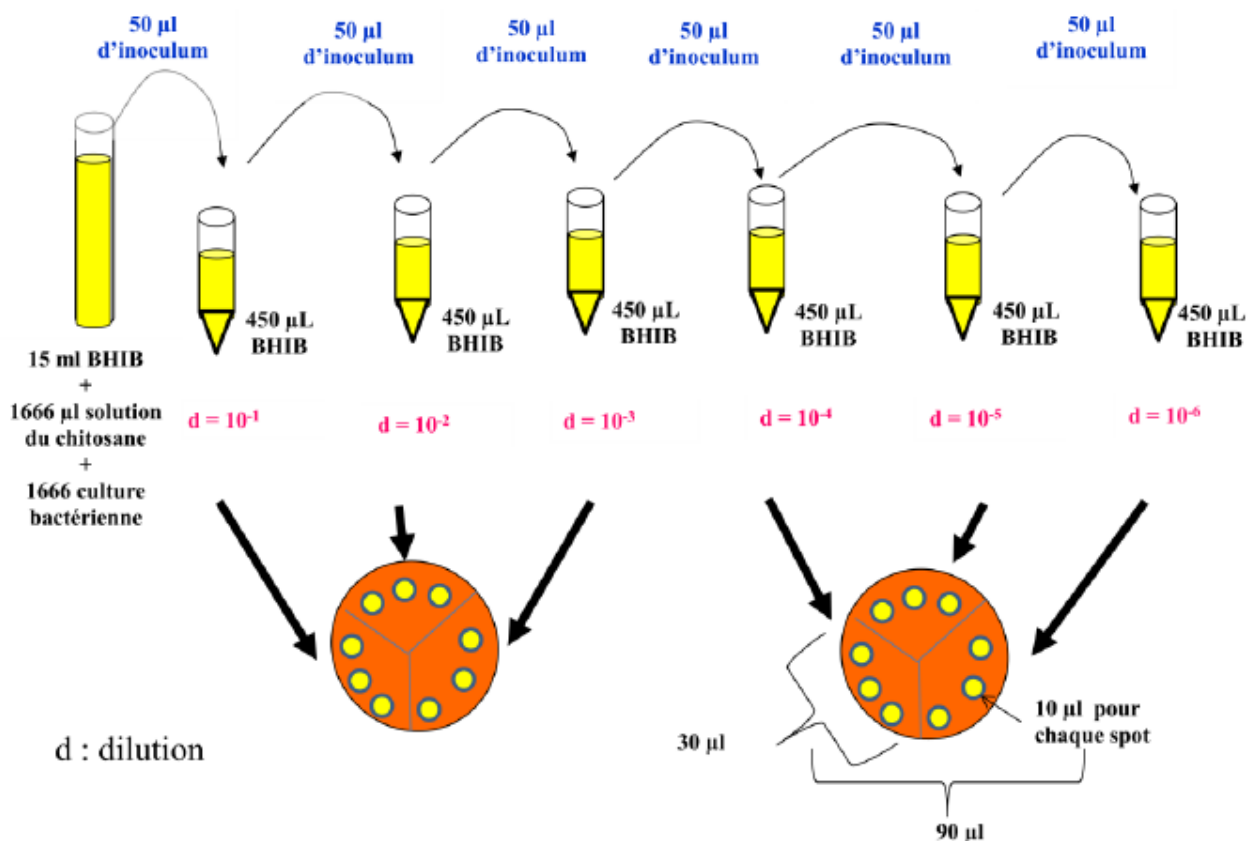


Figure 35. Technique de dilution et de dénombrement par des spots (Schéma de Otsmane).

### 2.6.3 Mesure de la densité optique

L'étude de l'évolution de la croissance des souches pathogènes a été effectuée dans le milieu BHIB à 37 °C, en aérobiose. La mesure de la densité optique (DO) avec des spectrophotomètres automatiques (JENWAY-7305, Royaume-Uni) à 600 nm permet de suivre en temps réel la croissance de la biomasse bactérienne dans le milieu de culture avec le chitosane. Ainsi, la courbe :  $DO_{600nm} = f(t)$  a été tracée.

La première préculture est réalisée dans 15 mL de bouillon BHIB contenue dans un tube ensemencée par 1666 µL de la culture de 10<sup>7</sup> UFC/ml avec 1666 µL du chitosane en solution, ce mélange a été agité par un vortex. Puis étuvée à 37°C pendant 18 heures. La densité optique est mesurée toutes les deux heures d'incubation.

La DO permet d'estimer la biomasse de la culture et non directement sa concentration en cellules viables. Cette détermination se fera par la technique de dénombrement de Guiraud (1998) des unités formant colonies (UFC) sur boîte de milieu gélosé (Molmeret et *al.*, 2010).

## 2.7 Analyses statistiques

Toutes les données ont été exprimées en moyenne  $\pm$  écart type (écart type). Les résultats ont été analysés statistiquement en utilisant le programme d'analyse de variance ANOVA avec LSD (STATISTICA 6) et le niveau de signification des données est pris à la probabilité ( $p \leq 0,05$ ).

## 3. RESULTATS ET DISCUSSION

L'analyse préliminaire des constituants des co-produits de la crevette ont été exposés dans la première partie de ce chapitre.

### 3.1 Rendement en masse de l'extraction de chitine et de chitosane

Le procédé de désacétylation élimine excessivement les groupes acétyle du polymère (chitine) pour obtenir le chitosane (Fernandez-Kim 2004). La figure 36, nous montre l'apparence finale des différents chitosanes obtenus dans notre étude. Cependant, le rendement en masse de chitosane obtenu à partir de chitines montre une différence entre le taux de chitosane extrait chimiquement et celui extrait par méthode enzymatique (Tab.14). Nos résultats sont supérieurs à ceux obtenus par Hajji et al. (2015) sur les carapaces de crabe [*Carcinus mediterraneus* (Czerniavsky, 1884)] (10%). En revanche, nos données sont similaires à ceux obtenues par Hamdi et al. (2017) sur la crevette (*Penaeus kerathurus*) et par Lassoued et al. (2015) sur la crevette tachetée (*Metapenaeus monoceros*) (22,23; 21% respectivement).

**Tableau 14.** Les rendements massiques des différents extractions de la chitine et du chitosane à partir des co-produits d'*Aristeus antennatus* de la côte ouest algérienne. HC1: hydrolyse chimique1, HC2: hydrolyse chimique2, HES: hydrolyse enzymatique alcaline (Savinase), HEP: hydrolyse enzymatique acide (Pepsine). [Valeurs sont en moyenne mean  $\pm$  SD (n = 3). Les moyennes avec lettres différentes (a-d) dans une colonne indiquent une différence significative ( $p \leq 0,05$ )].

| Rendement (%)    | Déminéralisation              | Déprotéinisation<br>(chitine)  | Désacétylation<br>(Chitosane) |
|------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| HC1              | 52,80 $\pm$ 0,36 <sup>b</sup> | 18,89 $\pm$ 0,30 <sup>dc</sup> | 09,02 $\pm$ 0,97 <sup>d</sup> |
| HC2              | 49,05 $\pm$ 0,98 <sup>c</sup> | 20,45 $\pm$ 1,39 <sup>c</sup>  | 06,65 $\pm$ 0,76 <sup>c</sup> |
| HE <sub>Al</sub> | 65,48 $\pm$ 0,52 <sup>a</sup> | 23,04 $\pm$ 0,06 <sup>ba</sup> | 10,53 $\pm$ 2,0 <sup>ab</sup> |
| HE <sub>Ac</sub> | -                             | 25,18 $\pm$ 1,10 <sup>a</sup>  | 13,23 $\pm$ 0,45 <sup>a</sup> |

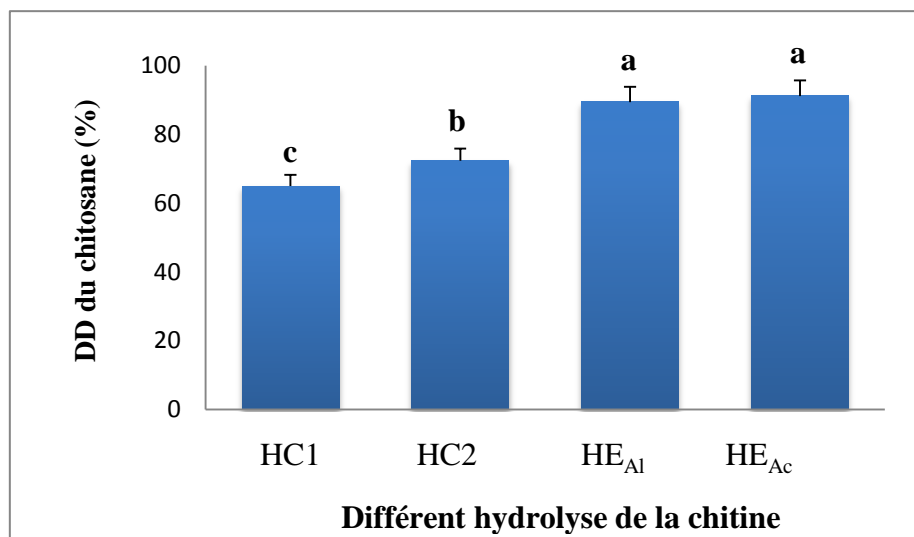


**Figure 36.** Aspect final du chitosane obtenu par différentes méthode d'extraction de la chitine. (A et B) extraction chimique de la chitine, (C et D) extraction enzymatique de la chitine.

### 3.2 Degré de désacétylation du chitosane (DD)

Les résultats ont révélé que les pourcentages les plus bas ont été obtenus pour le chitosane extrait par des méthodes chimiques (65 et 72,34%) par rapport au chitosane obtenu par procédé enzymatique (89,45 et 91,20%) (Fig. 37). L'analyse statistique ANOVA a montré une différence entre les différents DD à l'exception du chitosane obtenu par hydrolyse enzymatique de la chitine (EH<sub>Al</sub> et EH<sub>Ac</sub>), pour laquelle aucune différence significative n'a été détectée ( $p = 0,095 > 0,05$ ).

Ces différences dépendent de la manière dont les échantillons ont été traités : concentrations de produits chimiques et méthode de purification de la chitine et du chitosane (No et *al.*, 1989). Il apparaît que l'extraction enzymatique (en milieu alcalin ou acide) de la crevette rouge, suivie d'une désacétylation sévère par le NaOH concentré à haute température, permet d'obtenir un chitosane de meilleure qualité et facilement soluble en raison de son DD élevé (Fig. 38).



**Figure 37.** Le degré de désacétylation du chitosane (DD) obtenu par les différentes extractions de la chitine à partir des co-produits de la crevette rouge. HC1: hydrolyse chimique1, HC2: hydrolyse chimique2, HE<sub>Al</sub>: hydrolyse enzymatique alcaline (Savinase), HE<sub>Ac</sub>: hydrolyse enzymatique acide (Pepsine). Lettres <sup>(a-c)</sup> indiquent des différences significatives ( $p \leq 0,05$ ).



**Figure 38.** La solubilité du chitosane dans l'acide acétique à 1 %.

### 3.3 Analyse biochimique de la chitine et du chitosane

Selon les résultats obtenus, la chitine obtenue par la méthode chimique (HC1) a une teneur en protéines plus faible (04,06%) que les autres méthodes (HC2, HE<sub>Al</sub> et HE<sub>Ac</sub>) avec une

différence significative ( $p \leq 0,05$ ). De plus, les minéraux de chitine et de chitosane sont présents, mais en faibles pourcentages (Tab. 2). Quelles que soient les méthodes utilisées (extraction chimique ou enzymatique), le chitosane obtenu présente une très faible concentration de protéines et de minéraux et est complètement dégraissé (Tab.15). Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Hamdi et al. (2017) sur la chitine préparée à partir de co-produits de *Penaeus kerathurus* (21,87% de protéines, 1,09% de lipides et 52,64% de cendres).

**Tableau 15.** Composition biochimiques de la matière première séchée, de la chitine et du chitosane purifiés (par rapport à la matière sèche). HC1-2: hydrolyse chimique1-2, HES: hydrolyse enzymatique alcaline (Savinase), HEP: hydrolyse enzymatique acide (Pepsine). [Valeurs sont en moyenne mean  $\pm$  SD (n = 3). Les moyennes avec lettres différentes (a-d) dans une colonne indiquent une différence significative ( $p \leq 0,05$ )].

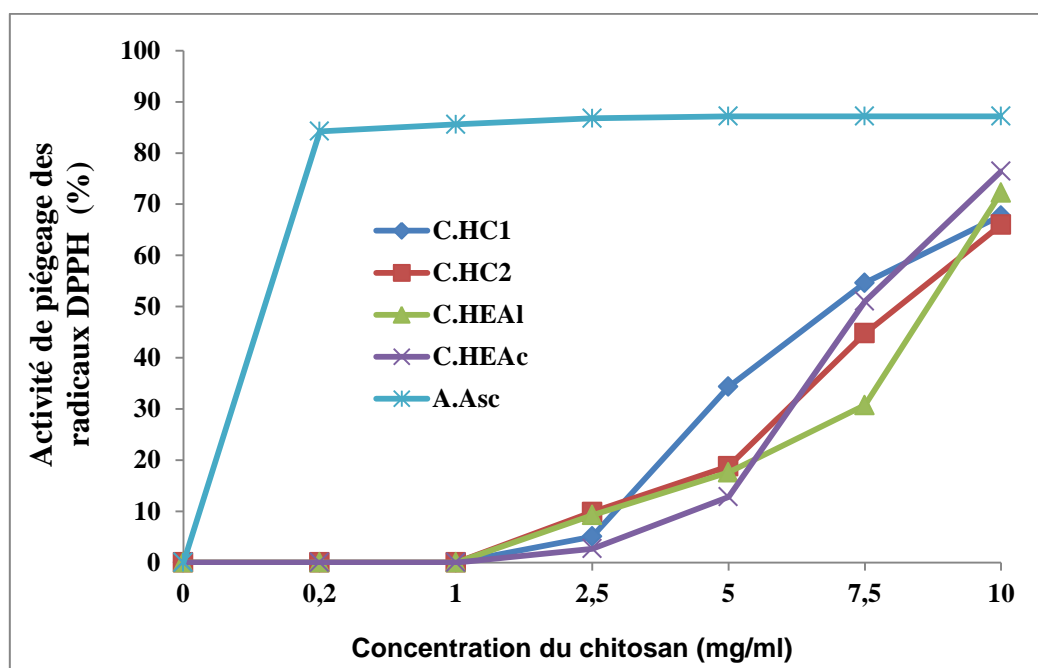
| Composition (%) |      | Dry matter       | Ash                            | Lipids              | Proteins                      |
|-----------------|------|------------------|--------------------------------|---------------------|-------------------------------|
| Chitin          | HC1  | 95,21 $\pm$ 0,10 | 09,37 $\pm$ 0,57 <sup>a</sup>  | 0,10 <sup>acb</sup> | 04,06 $\pm$ 0,35 <sup>d</sup> |
|                 | HC2  | 94,33 $\pm$ 0,23 | 04,11 $\pm$ 0,41 <sup>d</sup>  | 0,09 <sup>bca</sup> | 18,55 $\pm$ 0,47 <sup>a</sup> |
|                 | EHA1 | 89,84 $\pm$ 0,40 | 05,36 $\pm$ 0,55 <sup>c</sup>  | 0,04 <sup>d</sup>   | 11,23 $\pm$ 0,68 <sup>c</sup> |
|                 | EHAc | 89,20 $\pm$ 0,09 | 06,86 $\pm$ 0,21 <sup>b</sup>  | 0,08 <sup>cab</sup> | 14,70 $\pm$ 0,30 <sup>b</sup> |
| Chitosane       | HC1  | 99,04 $\pm$ 0,92 | 1,53 $\pm$ 0,44 <sup>a</sup>   | 0,00                | 0,65 $\pm$ 0,40 <sup>ab</sup> |
|                 | HC2  | 98,31 $\pm$ 0,86 | 0,09 $\pm$ 0,05 <sup>dc</sup>  | 0,00                | 0,88 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup>  |
|                 | EHA1 | 98,00 $\pm$ 1,29 | 0,49 $\pm$ 0,01 <sup>bdc</sup> | 0,00                | 0,09 $\pm$ 0,01 <sup>cd</sup> |
|                 | EHAc | 98,66 $\pm$ 1,08 | 0,15 $\pm$ 0,10 <sup>cdb</sup> | 0,00                | 0,04 $\pm$ 0,02 <sup>c</sup>  |

### 3.4 Activité antioxydante

#### 3.4.1 Capacité de récupération des radicaux libres DPPH

Tous les chitosanes, obtenus par désacétylation de la chitine, ont présenté une bonne capacité de piégeage du DPPH d'une manière dépendante de la concentration (Fig. 39). Ces résultats restent inférieures à ceux obtenus par de l'acide ascorbique aux mêmes concentrations. Le chitosane obtenu à partir de l'extraction enzymatique de la chitine (EH<sub>Ac</sub>) et celui obtenu par extraction chimique (HC1) de la chitine ont présenté la capacité de piégeage la plus élevée à une concentration de 10 mg / ml (respectivement 76,41% et 72,23%). Alors que les deux autres chitosanes présentaient des capacités plus faibles à piéger le DPPH (respectivement 67,71% et 65,97%).

Ces résultats sont inférieurs à ceux obtenus par Yen *et al.* (2007), sur les crabes (46,4% à 52,3%). La valeur de la concentration inhibitrice semi-maximale ( $IC_{50}$ ) la plus faible est enregistrée par le chitosane (C.EH<sub>Ac</sub>) (4,97 mg/mL), suivie par du chitosane obtenu par déprotéinisation chimique de la chitine (C.HC1 et C.HC2) (5,35 et 5,85 mg/mL respectivement) (Fig.39). Tandis que la valeur de la concentration  $IC_{50}$  la plus élevée est signalée dans la solution de chitosane (C.EH<sub>Al</sub>) obtenu de la chitine à base d'hydrolyse enzymatique alcaline (6.73 mg/ml). Ces résultats sont quatre fois plus supérieurs à l' $IC_{50}$  de l'acide ascorbique, et nettement supérieurs aux valeurs de l' $IC_{50}$  du chitosane extrait de crabe bleu *Portunus segnis* (Hamdi *et al.*, 2018) et du crabe *Carcinus mediterraneus* (Hajji *et al.*, 2015) (1.76 et 4.66 mg/mL respectivement). Contrairement au chitosane extrait du crabe de boue *Scylla olivacea* (Sarbon *et al.*, 2015), la valeur de l' $IC_{50}$  est de 11.37 mg/m, elle est supérieure à nos résultats obtenus.

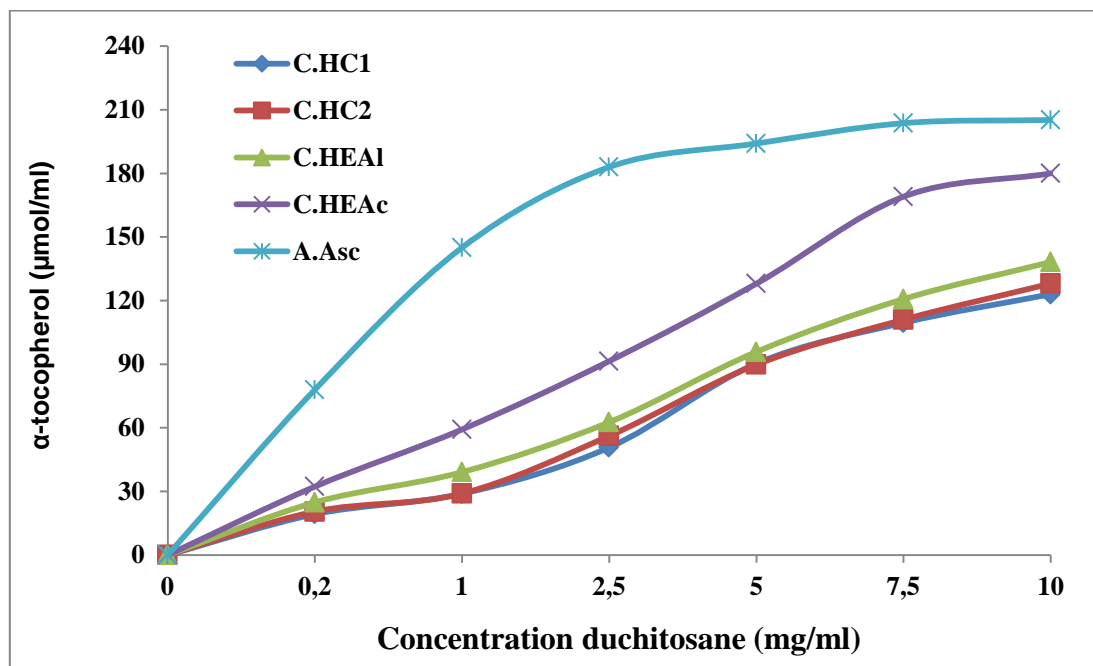


**Figure 39.** Capacité de piégeage du DPPH (%) du chitosane à différentes concentrations (1, 2.5, 5, 7.5, 10 mg /ml). C.HC1-2 : Chitosane obtenu à partir de la chitine extraite par hydrolyse chimique1-2, C.HE<sub>Al</sub>/<sub>Ac</sub> : Chitosane obtenu à partir de l'extraction enzymatique alcaline/acide de la chitine. A.Asc : Acide ascorbique.

### 3.4.2 Activité antioxydante totale

Les capacités antioxydantes totales des chitosanes (C.HC1, C.HC2, C.HE<sub>Al</sub> et C.HE<sub>Ac</sub>) ont été réalisées à différentes concentrations (0,2 à 10 mg / ml) et sont illustrées sur la figure 40. De manière similaire, les chitosanes ont montré une activité antioxydante croissante avec une

concentration croissante, et l'efficacité antioxydante maximale variant entre 123 et 180  $\mu\text{mol} / \text{ml}$  d'équivalents d' $\alpha$ -tocophérol à une concentration de 10  $\text{mg} / \text{mL}$ . Le chitosane (C.HE<sub>Ac</sub>) avait le pouvoir antioxydant le plus élevé par rapport aux autres chitosanes (180  $\mu\text{mol} / \text{ml}$ ), mais l'acide ascorbique à la même concentration de 10  $\text{mg} / \text{ml}$  présentait la valeur la plus élevée (205,19  $\mu\text{mol} / \text{ml}$  aux différentes solutions de chitosane. Ces valeurs sont moins élevées à celles obtenues par Hamdi *et al* (2017) (272  $\text{mmol} / \text{ml}$  équivalents d' $\alpha$ -tocophérol).



**Figure 40.** Capacités antioxydantes du chitosane à différentes concentrations (0,2, 1, 2,5, 5, 7,5, 10  $\text{mg} / \text{ml}$ ) grâce aux tests d'activité antioxydante totale. C.HC1-2 : Chitosane obtenu à partir de la chitine extraite par hydrolyse chimique 1-2, C.HE<sub>A1/Ac</sub> : Chitosane obtenu à partir de l'extraction enzymatique alcaline/acide de la chitine. A.Asc : Acide ascorbique.

### 3.5 L'activité antimicrobienne du chitosane

Les activités antibactériennes et antifongiques des chitosanes ont été évaluées par rapport à quatre souches bactériennes pathogènes humaines : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas sp* et deux souches fongiques : *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, en mesurant la zone d'inhibition de croissance claire (en mm) (Tab. 16). L'effet du chitosane soluble dans l'acide acétique  $\text{CH}_3\text{COOH}$  (1%) n'est pas le même sur les bactéries que sur les champignons (exemple sur Fig. 41). Les résultats ont montré que les solutions de chitosane ont un effet létal beaucoup plus sur les champignons que sur les bactéries, avec une différence significative ( $p \leq 0,05$ ). Ceci est bien argumenté par les zones d'inhibition dans les boîtes de Pétri fongiques (entre 22,71% et 30,08%). Il est également à noter que l'activité antimicrobienne du chitosane augmente avec un degré de désacétylation élevé. Le chitosane

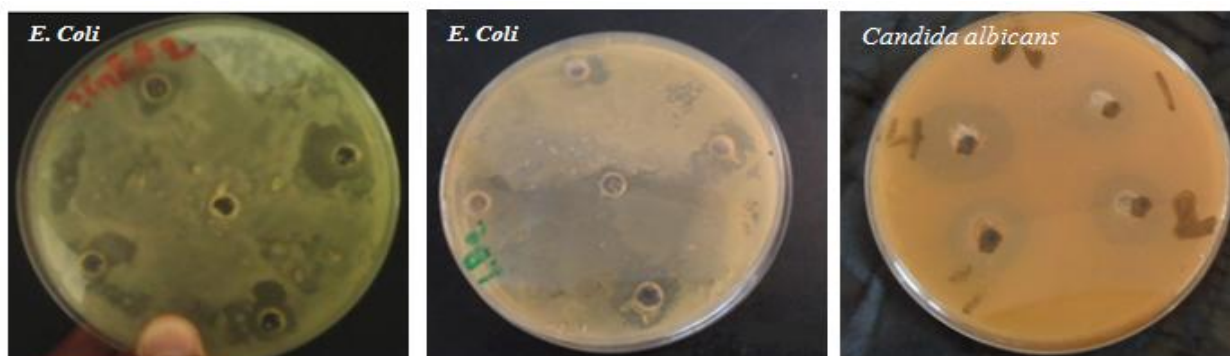
avec une DD supérieure (91,20%) inhibe fortement la croissance d'*E. coli*, mieux qu'une solution de chitosane avec un DD faible (65%).

Cependant, l'effet d'inhibition des différentes solutions de chitosane est très important pour les bactéries à Gram négatif que pour les bactéries à Gram positif. La résistance antibactérienne la plus élevée contre les bactéries à Gram négatif (29,28 mm) a été observée contre *Bacillus cereus* pour le chitosane obtenu à partir de chitine extraite par méthode enzymatique en milieu acide (pepsine), suivi par l'autre chitosane obtenu à partir de chitosane extraite par méthode enzymatique en milieu alcalin (savinase), et ceci est marqué par une zone d'inhibition de (26,06 mm). Cependant, aucune activité antifongique n'a été notée contre *Aspergillus sp* pour toutes les solutions de chitosane analysées.

Comparant les résultats obtenus par l'extraction chimique, les travaux menés par Prabu et Natarajan (2012) sur les co-produits des crabes (*Podophthalmus Vigil*) ont donné des résultats presque proche contre les grammes négatifs (*E.coli*, 13,04 mm), mais contre les bactéries gramme positif, les valeurs sont très inférieures à nos résultats (*B. cereus*, *S.aureus* ; 9,17, 8,17 mm respectivement).

**Tableau 16.** Résultat de la diffusion sur agar semi-solide par la méthode des puits (AWDT) en contact avec le chitosane. **C.HC1-2:** Chitosane obtenu à partir de la chitine extraite par hydrolyse chimique1-2, **C.HE<sub>Al/Ac</sub>:** Chitosane obtenu de l'extraction enzymatique alcaline/acide de la chitine.[ Valeurs sont en moyenne mean ± SD (n = 3). Les moyennes avec lettres différentes (a-d) dans une ligne indiquent une différence significative (p ≤ 0,05)].

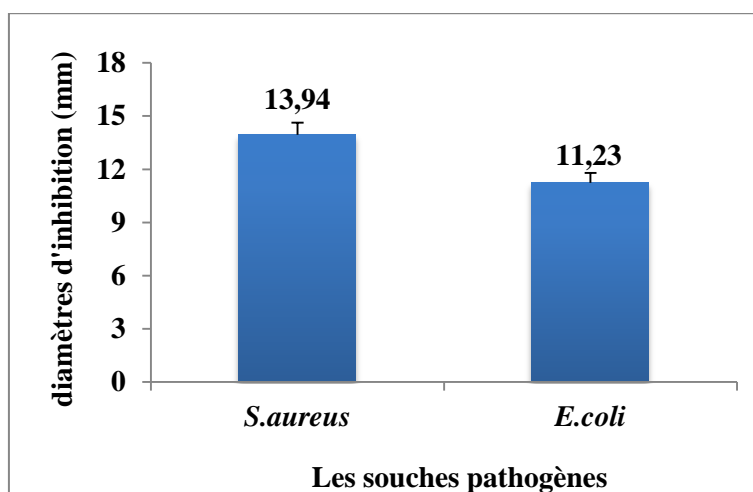
| Pathogenic strains           | Inhibition zone diameter (mm) |                            |                             |                             |
|------------------------------|-------------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|                              | C. HC1                        | C. HC2                     | C. HE <sub>Al</sub>         | C. HE <sub>Ac</sub>         |
| <i>Escherichia coli</i>      | 10,08 ± 0,33 <sup>dc</sup>    | 14,82 ± 1,01 <sup>bc</sup> | 12,38 ± 1,31 <sup>c</sup>   | 19,01 ± 1,69 <sup>a</sup>   |
| <i>Pseudomonas sp.</i>       | 12,53 ± 0,79 <sup>a</sup>     | -                          | -                           | 10,00 ± 0,62 <sup>b</sup>   |
| <i>Bacillus cereus</i>       | 18,20 ± 0,04 <sup>cd</sup>    | 17,90 ± 0,20 <sup>dc</sup> | 26,07 ± 0,84 <sup>b</sup>   | 29,28 ± 1,03 <sup>a</sup>   |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 13,58 ± 0,44 <sup>abcd</sup>  | 12,86 ± 0,81 <sup>dc</sup> | 14,83 ± 0,72 <sup>bac</sup> | 15,11 ± 0,24 <sup>abc</sup> |
| <i>Aspergillus sp.</i>       | -                             | -                          | -                           | -                           |
| <i>Candida albicans</i>      | 22,71 ± 0,51 <sup>c</sup>     | 24,68 ± 0,50 <sup>b</sup>  | 20,19 ± 0,96 <sup>d</sup>   | 30,08 ± 0,28 <sup>a</sup>   |



**Figure 41.** Aspect des zones d’inhibition de la croissance microbienne en présence du chitosane par la méthode de diffusion en puits.

### 3.5.1 Diffusion sur agar semi-solide par méthode des spots

Afin d’évaluer le potentiel antibactérien du chitosane par ce test, le spectre d’activité du chitosane a été élargi contre deux souches pathogènes, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. La méthode des spots sur MH semi solide (gélose molle) est une méthode simple qui permet de tester l’effet du chitosane, les résultats ont confirmé que les bactéries à Gram positif ont été plus sensibles que celles à Gram négatif vis-à-vis de l’action du chitosane (Fig. 42). Le chitosane possède une activité inhibitrice sur la souche *Staphylococcus aureus* importante, le diamètre d’inhibition est de l’ordre de  $13,94 \pm 0,8$  mm et pour *Escherichia coli* le diamètre d’inhibition est de  $11,23 \pm 0,82$  mm.



**Figure 42.** Pouvoir antibactérien du chitosane (diamètre d’inhibition) contre *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

Selon ces résultats, l’action du chitosane sur les microorganismes dépend, d’une part de la structure membranaire de la cellule cible, puisqu’elles possèdent un effet inhibiteur beaucoup plus sur les bactéries Gram+ que sur les bactéries Gram-. Cette résistance est probablement

liée à la complexité de l'enveloppe cellulaire de ces micro-organismes qui contient une double membrane, contrairement à la structure membranaire simple des bactéries à Gram+.

En effet, les bactéries à Gram<sup>-</sup> sont caractérisées par une couche mince de peptidoglycane et une membrane externe composée de lipopolysaccharide (LPS) qui n'est pas présente chez les bactéries à Gram-positif typique. La couche LPS agit comme une barrière contre la pénétration des molécules hydrophobes (Perry et *al.*, 2009). Dans des travaux précédents, il a été constaté que les bactéries Gram-négatif telles que *E. coli* sont apparues plus résistantes à l'action du chitosane par rapport à des bactéries Gram-positif telles que *S. aureus* (Coma et *al.*, 2003 ; Cueva et *al.*, 2010). On note donc, que le chitosane agit sur les bactéries Gram positif et sur les bactéries à Gram négatif. Cependant, son action sur ces dernières est moins importante que celle qui est sur les bactéries à Gram positif (No et *al.*, 2002).

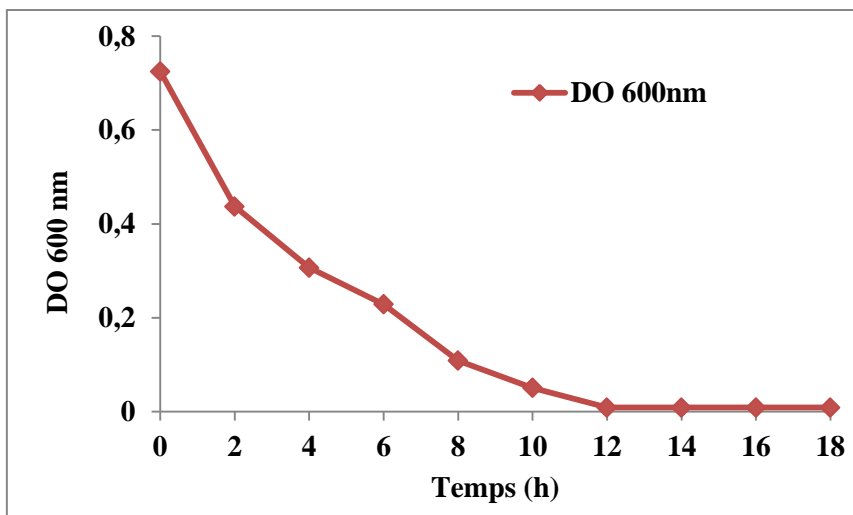
### **3.5.2 Cinétique de croissance bactérienne mise en contact avec le chitosane**

#### **3.5.2.1 Dénombrement des souches**

Les deux souches *S. aureus* et *E. Coli* ont été dénombrées sur la gélose MH solide par la méthode des spots. Leur nombre varie de  $9,97.10^5$  UFC/ml à  $6,26.10^3$  UFC/ml cette charge microbienne diminue considérablement jusqu'à s'annuler au bout de 6 H pour la souche *S. aureus*. Par contre, la charge microbienne de la souche *E. Coli* varie de  $2,8.10^5$  UFC/ml à  $4,76.10^4$  UFC/ml après 8 heures d'incubation la croissance d'*E. Coli* est nul. L'inhibition de ces deux souches bactériennes par le chitosane commence à partir des premières heures d'incubation. Après 8 heures d'incubation à 37 °C, aucune culture d'*E. Coli* et de *S. aureus* n'a été obtenue. Cette décroissance atteint le nombre 0 UFC/ml, c'est l'inhibition totale. Ces résultats ouvrent des perspectives intéressantes pour lutter contre les intoxications alimentaires, en utilisant des potentialités biologiques et les interactions entre les microorganismes afin de réduire ainsi l'effet secondaire indésirable des produits chimiques appelés conservateurs.

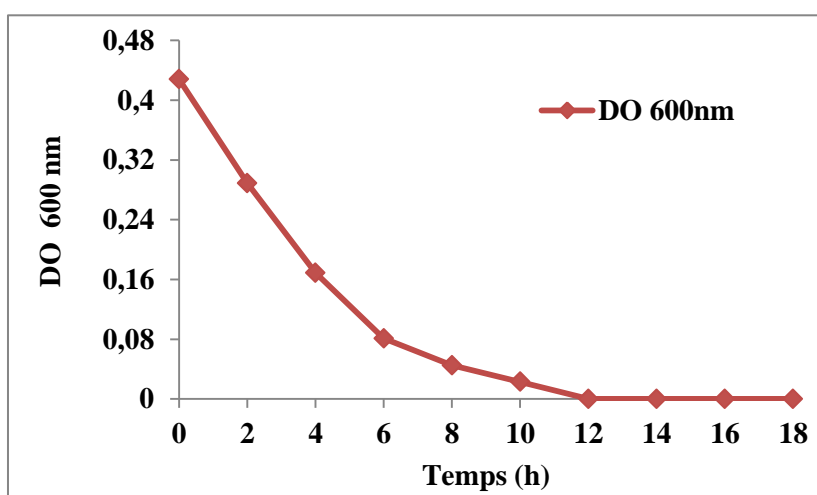
#### **3.5.2.2 Mesure de la densité optique**

Le suivi de la croissance par la mesure de la densité optique (600 nm), à des intervalles de temps : 0h, 2h, 4h, 10, jusqu'à 18 heures d'incubation à 37°C, d'une culture de deux souches ciblées (*Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*) est illustré dans les figures ci-dessous. La cinétique de croissance des bactéries varie en fonction du temps pour les deux souches en présence du chitosane dans le milieu.



**Figure 43.** Mesure de la cinétique de croissance de la souche *Staphylococcus aureus* mise en contact avec le chitosane à  $DO_{600\text{ nm}}$  à  $37^{\circ}\text{C}$ .

On note pour les résultats obtenus de la mesure des variations de la DO avec une longueur d'onde égale à 600 nm de *Staphylococcus aureus*, que la courbe décroissante de la mesure en fonction du temps, est caractérisée par la première phase de déclin qui se déroule entre 0 heures à 12 heures d'incubation à  $37^{\circ}\text{C}$  en culture mixte (BHIB+ chitosane + *S. aureus*). Ainsi, la décroissance bactérienne continue, qui est due à l'activité antimicrobienne du chitosane, est en diminution de la densité optique de 0,725 jusqu'à un 0,009. La deuxième phase est demeurée fixer à une DO de 0,009 après les 12 heures d'incubation (Fig.43).



**Figure 44.** Résultats de la mesure de cinétique de croissance de la souche *Escherichia coli* mise en contact avec le chitosane à  $DO_{600\text{ nm}}$  après chaque deux heures d'incubation à  $37^{\circ}\text{C}$ .

Selon le graphe 44 des résultats obtenus pour *E. coli*, le déclin de la courbe de croissance de la bactérie en présence du chitosane, se déroule dans les premières heures environs, 10 heures

d'incubation en atteignant le zéro. Cette réduction témoigne de la décroissance bactérienne continue, qui est due à l'activité antimicrobienne du chitosane.

## **II.3 VALORISATION DES CO-PRODUITS DE THON ROUGE : APPLICATION À LA MICROBIOLOGIE**

### **1. Introduction**

L'objectif à atteindre dans cette troisième partie de ce chapitre, est de mettre en valeur le broyat de ces co-produits (tête, peau, viscères, nageoires, etc....) aussi bien que la fraction insoluble issue de l'hydrolyse enzymatique des co-produits de thon, déjà évoqué dans la première partie de la recherche. Ces deux variétés de produit vont être utilisées dans le domaine de la microbiologie en les utilisant comme source d'azote composant des milieux de culture pour les microorganismes. Puis étudier la possibilité d'utiliser la matière première (co-produits) du thon comme source de bactéries à intérêt industriel entre autres les bactéries lactiques.

### **2. Matériels et méthodes**

#### **2.1 Hydrolyse chimique et préparation de l'isolat protéique**

L'isolat protéique désigne un produit qui est caractérisé par sa richesse en teneur en protéines avec un faible taux de cendres. La préparation d'un isolat protéique est réalisée par une succession de différentes étapes (Sajot, 1979) : Déprotéinisation, dépigmentation, déminéralisation et délipidation (Fig. 45).

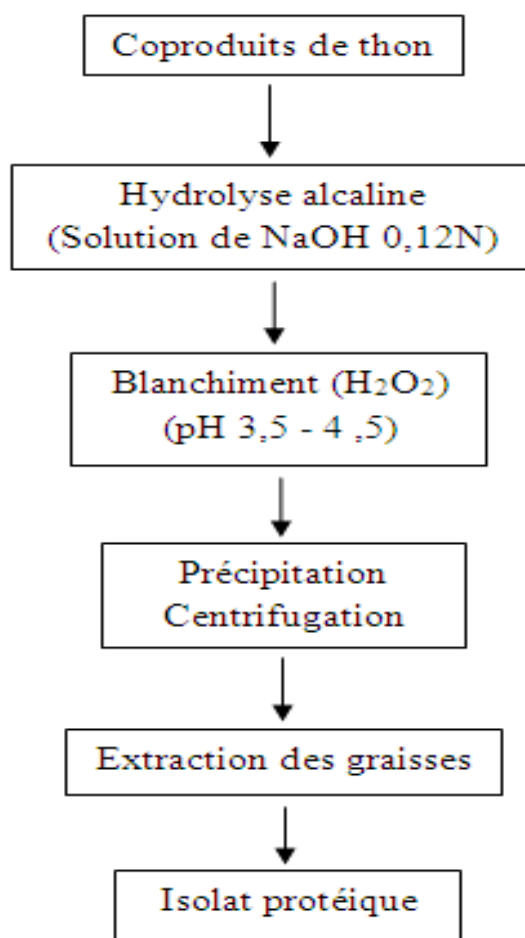
##### **2.1.1 Hydrolyse alcaline**

Il s'agit d'une hydrolyse chimique par une solution de NaOH (0,12 N) ajoutée à un échantillon pour atteindre le pH 12,5 nécessaire pour l'hydrolyse totale de l'échantillon, et chauffée à 70°C pendant 120 min pour accélérer l'hydrolyse. On peut faire un tamisage pour éliminer les parties de déchets non dégradées.

Généralement, l'étape du blanchiment est réalisé par l'ajout d'eau oxygénée H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (pH 3,5-4,5), pour atteindre un pH de 11,5 du mélange précédent. Il faut chauffer à une température faible 50°C pendant 30min. La précipitation est faite par l'ajout d'un acide fort (HCl concentré) afin de stabiliser l'action de l'eau oxygénée et pour précipiter les protéines car le pH du milieu devient dans les alentours de 4,5. Puis, on réalise une centrifugation pour séparer le liquide du précipitât.

L'extraction des graisses se réalise à partir du précipitât obtenu 2 à 3 essais d'extraction à l'aide d'une solution de l'isopropanol. Cette extraction est facilitée par un chauffage à 60°C pendant 15 min, et une centrifugation est exigée afin de séparer un surnageant (composé de l'huile + isopropanol) et un culot.

Le culot exempté de matière grasse sera lavé 2 à 3 fois puis sécher dans une étuve à 50°C. A la fin de ces étapes, on a un produit sous forme d'une poudre qu'on peut l'appeler « isolat protéique ».



**Figure 45.** Diagramme de la fabrication d'un isolat protéique

## 2.2 Caractérisation biochimique des produits obtenus

Les teneurs en protéines, lipides, cendres ainsi que le taux d'humidité des co-produits de thon et de l'isolat protéique ont été déterminées selon les méthodes respectivement n°984.13, 927.05, 920.39B et 942.05, (AOAC, 2000). Un facteur de 6.25 a été utilisé pour convertir la

valeur de l'azote en protéine. Ces méthodes ont été détaillées au paravant en sous-chapitre précédent.

### 2.3 Préparation des milieux de culture

Un milieu de culture est une préparation au sein de laquelle des micro-organismes peuvent se multiplier. Il doit donc satisfaire les exigences nutritives du micro-organisme étudié ce qui implique. (Meyer et *al.*, 2004) :

- ✓ Couvrir les besoins en ions minéraux, en facteurs de croissance, apporter la source de carbone et d'énergie ;
- ✓ Présenter un pH voisin du pH optimal ;
- ✓ Présenter une force ionique optimale (le milieu peut être isotonique mais ce n'est pas obligatoire).

#### 2.3.1 Préparation d'un milieu de culture pour des bactéries lactiques

Afin de préparer le milieu universel (MRS : Man, Rogosa and Sharpe; 1960) et d'autres milieux de culture MRS modifié ( $MRS_M$ ) dans lequel l'isolat protéique ou la poudre du culot (ou fraction insoluble FIH) issue de l'hydrolyse enzymatique alcaline de thon sont additionnés à la préparation des milieux de culture, le protocole suivant était nécessaire : la quantité de peptone ajoutée dans la préparation ( $MRS_T$ ) témoin est remplacée dans la préparation du milieu ( $MRS_{M1}$ ) par la poudre (FIH). Alors que le milieu ( $MRS_{M2}$ ), la peptone est remplacé par l'isolat protéique des co-produits de thon.

#### 2.4.2 Préparation d'un milieu de culture pour des bactéries *E. coli*

Dans ce cas, on a préparé un milieu universel (TGEA : Tryptone Glucose Extract Agar) et d'autres milieux de culture modifié ( $TGEA_M$ ) dont lequel on a introduit soit (FIH), soit l'isolat protéique. Le milieu ( $TGEA_{M1}$ ) est préparé en remplaçant la peptone par (FIH) des co-produits de thon. Quant au milieu ( $TGEA_{M2}$ ), ce dernier est préparé à base de l'isolat protéique des co-produits de thon à la place de peptone.

- **Mode d'emploi**

L'élaboration des milieux de culture se fait à partir des poudres déshydratées. Au moment de l'emploi, on pèse avec précision une quantité de poudre équivalente à la quantité de milieu dont on a besoin (la préparation de milieu de culture est mentionnée sur l'étiquetage d'emballage du produit) additionnée avec 1000 ml d'eau distillée. L'ensemble poudre et eau distillée est chauffé sur plaque chauffante avec une agitation à l'aide d'un barreau magnétique

jusqu'à leur ébullition pour assurer une bonne dissolution des cristaux (chaque milieu à un pH précis, TGEA pH de  $7\pm 0,2$  et MRS pH de  $5,4\pm 0,1$ ). Les milieux sont ensuite répartis dans les flacons avant d'être autoclavés (pendant 20 minutes à  $121^{\circ}\text{C}$ ). La composition des milieux (MRS et TGEA).

## 2.4 Isolement des bactéries lactiques

Un protocole standard d'isolement et d'identification de ce type de bactéries a été suivi. Une solution a été préparée à partir de 10 g d'échantillon (poudre des co-produits de thon) dans 90 mL d'eau physiologique. A partir de cette solution mère, des dilutions décimales  $10^{-5}$  et  $10^{-6}$  ont été incubées dans un bouillon MRS (à  $30^{\circ}\text{C}$  pendant 24 à 48 h). Un résultat positif est indiqué par une turbidité dans le bouillon. A partir d'un tube positif, un prélèvement de 0,1 mL a été étalé sur gélose MRS en surface. L'incubation se fait en anaérobiose à  $30^{\circ}\text{C}$  pendant 24 h à 5 jours.

### 2.4.1 L'identification des souches isolées

L'identification des bactéries lactiques a été faite selon les techniques décrites par Guiraud et Galzy (1980), Garvie (1986 a, b), Petransxiene et Lapied, (1981) ; Guiraud (1998) ; Bourel et *al.*, (2001) en plusieurs tests :

### 2.4.2 Caractères morphologiques

- ✓ Une observation macroscopique permet de décrire l'aspect des colonies, obtenues sur milieu gélosé (taille, pigmentation, contour, viscosité...)
- ✓ L'examen microscopique a été effectué, après coloration de Gram sur une culture jeune de 24 h. Les formes caractéristiques des cellules microbiennes, leur arrangement, la présence ou non de spore et leur coloration de Gram ont été déterminées. Les cellules sont examinées au microscope optique (x100).

### 2.4.3 Caractères biochimiques

- ✓ L'activité catalytique consiste à prélever une colonie sur gélose MRS et dissociée dans une goutte d'eau oxygénée ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) à 10 volumes. Le résultat est immédiat et se caractérise par un dégagement gazeux ( $\text{O}_2$ ) si la catalase est présente (Devoyod et Muller, 1969).

- ✓ Un test de la croissance bactérienne à différentes températures permet de distinguer les bactéries lactiques mésophiles des bactéries lactiques thermophiles (Bouix et Leveau, 1991 ; Larpent et Larpent-Gourgaud, 1997). Les souches développées ont été ensemencées dans MRS bouillon à deux températures différentes (à 15°C pendant une semaine) et (à 45°C pendant 24 à 48 h).
- ✓ Le test fermentaire a été effectué par l’ensemencement des souches dans le bouillon MRS glucosé contenant la cloche de Durham et incubé (à 37°C, pendant 24h à 48h). Le développement d’une bactérie hétérofermentaire se manifeste par l’apparition de gaz dans la cloche de Durham, qui est absente chez les bactéries homofermentaires (Bourgeois et *al.*, 1996).

### 3. RESULTAT ET DISCUSSION

#### 3.1 Analyse biochimique de l’isolat protéique

D’après les différentes étapes d’extraction de l’isolat (concentré) protéique issu des co-produits de thon rouge, le rendement massique obtenu présente un taux faible de 24% seulement.

A la lecture de ces résultats, présentée au tableau 17, les données ont montré un taux de protéines très élevé dans ce produit (83,23 %) avec une faible teneur en lipides et en cendres, en donnant à ce produit une qualité nutritionnelle potentielle.

**Tableau 17.** Composition biochimiques exprimé en (%) de la poudre des co-produits et de l’isolat protéique par rapport à la matière sèche.

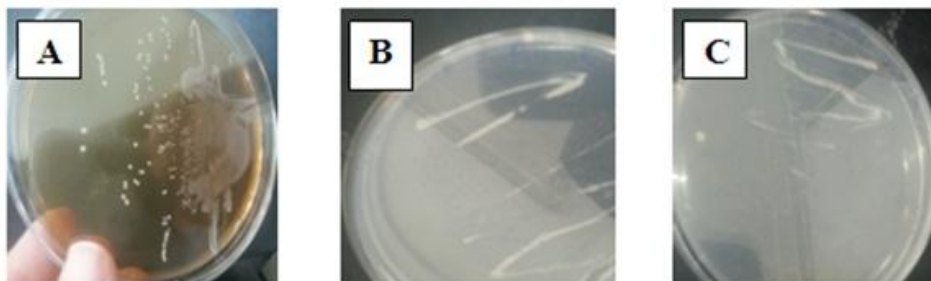
| Composition         | Matière sèche | Cendre      | Lipides     | Protéines    |
|---------------------|---------------|-------------|-------------|--------------|
| Concentré protéique | 96,1 ± 0,45   | 7,21 ± 0,09 | 8,32 ± 0,71 | 83,23 ± 0,67 |

#### 3.2 Analyses microbiologiques

##### 3.2.1 Etude microbiologique sur les milieux de culture modifiés

D’après la figure 46, les milieux de culture MRS préparés avec les co-produits de thon (MRS<sub>M1</sub>) et l’isolat protéique (MRS<sub>M2</sub>) sont de couleur transparente et de structure homogène que ceux du témoin. Les colonies de la bactérie lactique sont de couleur blanchâtre, convexes, lisses, à bord régulier et de petites tailles d’un diamètre d’environ 2 mm. La figure 46, montre qu’il existe une différence liée au nombre de colonies bactériennes développés sur les trois milieux de culture. L’apparition de ces bactéries exige une incubation plus lente sur les deux

milieux modifiés MRS<sub>M1</sub> et MRS<sub>M2</sub> (3 et 4 jours) par rapport au milieu témoin qui a nécessité seulement 2 jours pour l'apparition de la bactérie. Ces périodes sont nécessaires pour favoriser le développement de la bactérie lactique normalement en dégradant les composants essentiels présents dans le milieu tel que : les protéines.



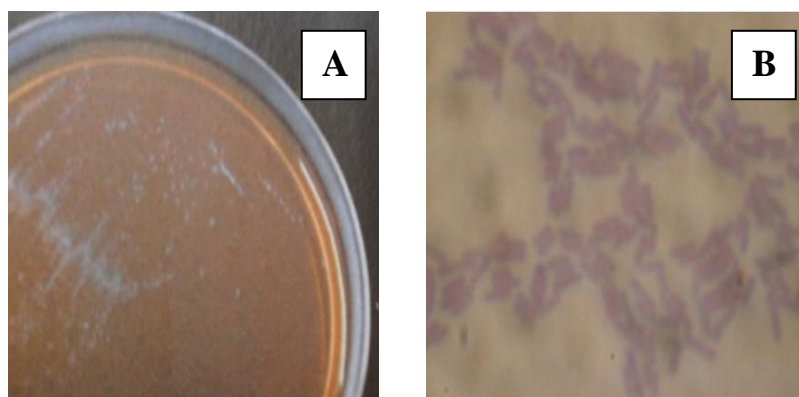
**Figure 46.** Aspect du développement bactérien sur gélose MRS après 48 h d'incubation.

A) MRS témoin, B) MRS<sub>M1</sub>, C) MRS<sub>M2</sub>

Concernant la croissance de l'*E.coli*, le développement de la bactérie sur les trois milieux était important et similaire par rapport au nombre de colonies développées, mais avec un léger écart au niveau de la durée de l'apparition bactérienne.

### 3.3 Isolement des bactéries lactiques à partir des co-produits de thon

Sur les deux milieux MRS bouillon (avec des dilutions  $10^{-5}$  et  $10^{-6}$  de solution des co-produits de thon) et après une incubation à 30°C pendant 24 à 48 h, nous avons obtenus des résultats positifs indiqués par une turbidité dans le bouillon MRS. Cela nous a poussé à réaliser d'autres analyses approfondies : Isolement sur MRS gélosé et coloration de Gram afin de confirmé la présence de la bactérie lactique (Fig.47).



**Figure 47.** (A) Aspect de la bactérie lactique en milieu MRS, (B) observation microscopique de la bactérie après coloration de gram (X100).

L'ensemencement sur gélose MRS acidifié a donné lieu, après incubation de 24 à 48h, à des colonies caractéristiques d'une seule bactérie lactique, identifiée selon l'observation microscopique qui donne à une bactérie à Gram positif et d'une forme de bâtonnets (bacilles) (fig.47.B). La bactérie développée, est dite thermophile car elle s'est développée à 45°C et pas à 15°C et caractérisé aussi par un catalase négatif. Donc c'est une bactérie lactique du groupe *Thermobacterium*.

**PARTIE EXPÉRIMENTALE**  
**CHAPITRE III**

### CHAPITRE III : ETUDE DE L'EFFICACITÉ NUTRITIONNELLE DES HYDROLYSATS PROTÉIQUES OBTENUES EN AQUACULTURE DE L'HYBRIDE TILAPIA ROUGE (*OREOCHROMIS SP.*).

#### 1. Introduction

L'aquaculture est l'un des secteurs de production alimentaire les plus dynamiques dans le domaine aquatique et devrait jouer un rôle clé pour répondre à la demande croissante de produits de la pêche en raison de l'augmentation de la population humaine et du déclin des ressources halieutiques. Près de la moitié des poissons sont destinés à la consommation humaine (FAO, 2014; Sing et al., 2014; Zhang et al., 2014). En Algérie, les principales activités aquacoles sont surtout concerné à l'empeusement avec des espèces introduites dans des plans d'eau naturels et artificiels (tel que *Cyprinus carpio*, *Tilapia zillii*, *Micropterus salmoides*, *Aristichthys nobilis*, *Hypophthalmichthys molitrix* .....etc. En vue de développer la pêche continentale et l'aquaculture intégrée à l'agriculture, deux espèces ont été importés *Hypophthalmichthys molitrix* de Hongrie et *Oreochromis niloticus* d'Egypte.

La culture de ces espèces en Algérie est une activité introduite récemment et on est encore au stade de développement, elle se limite principalement au vaste système de culture en bassins destinés à l'irrigation des terres agricoles. Ce type d'élevage dépend en effet intégralement d'une alimentation exogène qui représente par conséquent une part élevée des charges d'exploitation, pouvant atteindre 60% (Médale et Kaushik, 2009). Cette activité soumise à de fortes contraintes, aussi bien économiques qu'environnementales doit disposer d'aliments performants. Dans cette optique, l'introduction des hydrolysats protéiques en faible proportion est intéressante car elle permet d'améliorer les qualités nutritionnelles des aliments à haute teneur en protéines végétales ce qui se traduit par un impact positif sur la croissance. De nombreuses études sur les effets de l'inclusion de tels hydrolysats dans l'alimentation des poissons d'élevage sont menées. Cependant, si certains auteurs constatent une amélioration de la croissance chez certaines espèces pour des taux de substitution de la farine de poisson compris entre 5 et 25 % (Aksnes et al., 2006; Srichanun et al., 2014; Refstie et al., 2004), d'autres ne rapportent pas de tels effets (Savoie et al., 2006).

Dans le cas de l'aliment expérimenté sur la croissance et la production du tilapia rouge hybride (*Oreochromis mossambicus*<sup>♀</sup> × *O. niloticus*<sup>♂</sup>), aucune étude n'a été réalisée en introduisant les hydrolysats issus des co-produits de thon dans la fabrication de l'aliment. De ce fait, nous proposons dans cette partie de tester d'évaluer l'impact des hydrolysats de

crevette et de thon sur les performances de croissance des poissons tilapia rouge nourris par ces aliments expérimentaux. Les résultats obtenus font l'objet d'une publication soumise dans la revue « Aquaculture ».

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1 Présentation de la station d'expérimentation

Le projet de l'écloserie a été réalisé dans le cadre du programme de soutien à la relance économique 2005-2009. Ce projet vise l'enpoissonnement des plans d'eau au niveau national, en évitant l'importation d'alevins de la Hongrie.

La station se situe à proximité du barrage de Tabia, sidi Ali Ben Youb de 20 Km au sud de la wilaya de Sidi Bel Abbes, avec une superficie de 6 Hect (Fig. 48). Le projet a été réalisé par la société hongroise « INNOFLEX », dont les objectifs sont :

- ✓ Reproduction des poissons d'eau douce.
- ✓ Recherche, formation et démonstration, vulgarisation des techniques et technologie.

Les espèces ciblées : Sandre, black bass, carpe chinoise, carpe indienne et tilapia.



**Figure 48.** Vue satellitaire de la localisation de la station d'écloserie (CNRDPA) près du barrage Sidi Ali Benyoub, W-SBA.

### 2.2 Matériel d'élevage

Les alevins de tilapia utilisés lors de cette expérience proviennent de l'écloserie mobile (CNRDPA) de Tabia (wilaya de Sidi Bel Abbes), où l'expérience a été menée pendant quatre mois. L'espèce étudiée (Fig. 49) est un hybride obtenu par un croisement de deux espèces de tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) et *Tilapia mossambica* (Peters, 1852).



**Figure 49.** Photographie de *Tilapia Oreochromis sp*

Les expérimentations ont été menées à l'écloserie dans des bassins en fibre de verre de forme circulaire de 2 à 5 m<sup>3</sup>. Les paramètres de qualité de l'eau tels que la température, le pH, l'oxygène dissous (DO), l'ammoniac et les nitrites ont été effectués dans le laboratoire d'analyse de l'ADE de Sidi Bel Abbes et dans les laboratoires du centre (CNRDPA). Les paramètres de qualité de l'eau ont été maintenus à  $27,22 \pm 1,03$  °C ; DO à  $5,9 \pm 0,82$  mg/l; pH à  $7,01 \pm 0,28$  ; ammoniac à  $0,001 \pm 0,001$  mg/l et nitrite à  $0,151 \pm 0,01$  mg/l pendant toute la période de l'étude.

### **2.3 Fabrication de la farine de poisson à base des co-produits de thon**

Après hachage et broyage des co-produits de thon, ces derniers sont cuits à vapeur pendant 20 min. La modification de la texture du produit, en coagulant les protéines, libère une partie des matières grasses et favorise l'extraction de la phase liquide au pressage. Cette étape est essentielle pour la qualité du produit final. Une cuisson trop poussée détériore la matière première par rupture du tissu conjonctif et des chaînes protéiques. Au pressage, le gâteau devient trop mou et le jus de presse est chargé de solides en suspension (Guerreiro et Retiere, 1992).

Par la suite, l'eau et la matière grasse (appelées jus de presse) sont séparées immédiatement de la phase solide dans des conditions à températures élevées pour diminuer la viscosité des huiles. Cette étape de presse, donne un gâteau avec des teneurs en eau et en huile fortement

réduites. L'humidité est baissée de moitié. Le jus de presse (qui contient de l'eau, de l'huile, des protéines dissoutes, des vitamines, des minéraux...) est alors centrifugé pendant 40 minutes à 4000 tours par minute afin de permettre la séparation de l'huile. Le jus « maigre » résultant est ensuite concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif (rotavapor) jusqu'à réduire le volume de moitié.

Le concentré obtenu est ensuite remélangé avec le gâteau de presse puis séché à 45°C pendant 6 h et broyé à l'aide d'un broyeur. Le broyat est ensuite tamisé à l'aide d'un tamis de 1mm de maille. Cette farine sera plus tard, employée dans la fabrication de l'aliment de tilapia (Fig. 50).

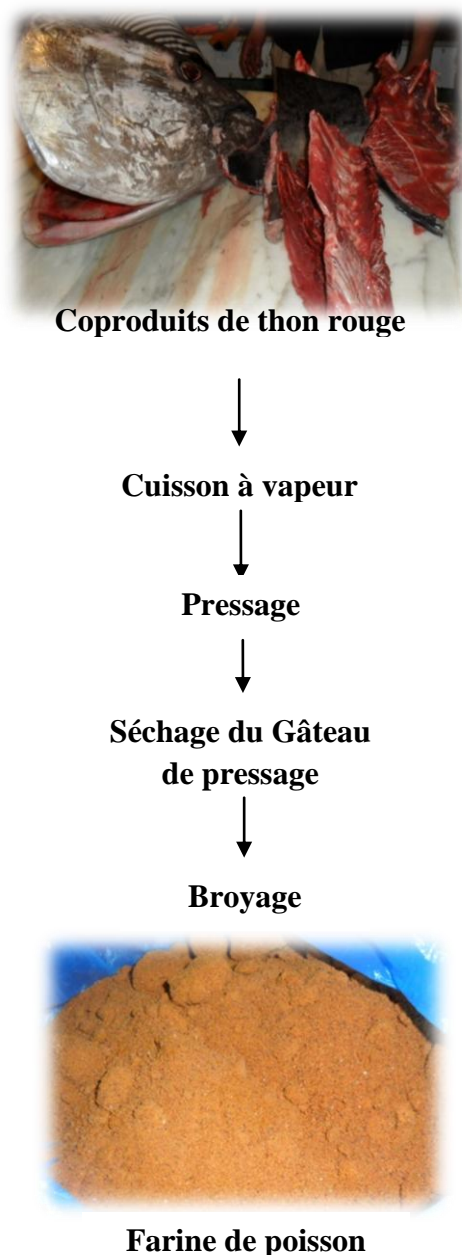
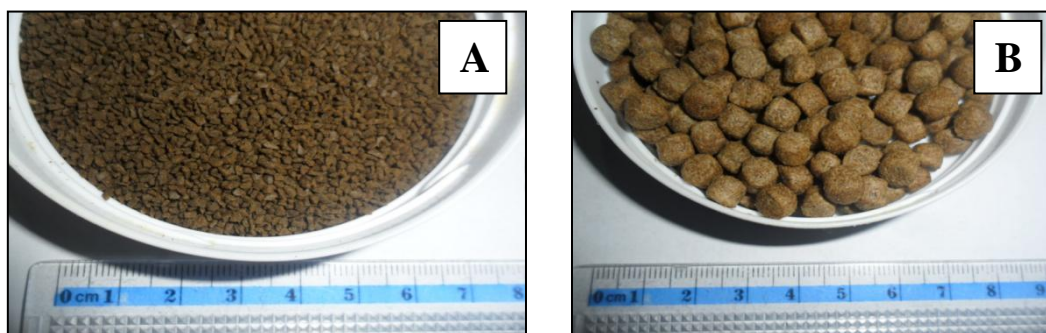


Figure 50. Schéma technique de fabrication de la farine de poisson.

## 2.4 Formulation des aliments pour Tilapia

La ration est à base de tourteau de soja, de son de blé et de maïs dont les compositions sont indiquées dans le Tableau 18. Ces trois matières premières constituent les principales sources d'énergie. Les différents dérivés d'hydrolyse et de la farine des co-produits de thon sont ensuite incorporés pour fournir les protéines animales.

Afin de valider l'intérêt de substituer tout ou partie des protéines animales dans l'aliment par des hydrolysats, des essais comparatifs sont effectués par rapport à deux aliments témoins. Le premier est celui qui contient uniquement des protéines végétales (AT1) (voir Annexe II, Tab.4), il sert de témoin négatif. Le régime (AT2) constitue le témoin positif et correspond à la composition des aliments utilisés actuellement on aquaculture (Fig.51) (aliment commercial « COPPENS », voir composition en annexe II, tableau 3. Deux régimes (A1 et A2) contenant respectivement les hydrolysats protéiques de la crevette et de thon (HPC<sub>Ac</sub> et HPT<sub>Al</sub>). Tandis que le troisième régime A3 est réalisé par un mélange de farine de poisson et d'hydrolysat de crevette (FT + HPC<sub>Ac</sub>) (Tab. 19). Ces trois aliments permettent ainsi de faire la différence entre les effets provoqués par les hydrolysats protéiques à base animale dans l'aliment. Dans le cadre d'une première expérience de conditionnement alimentaire, les prélèvements ont été effectués après 111 jours d'alimentation pour déterminer l'influence des régimes expérimentaux sur l'assimilation des protéines. Les paramètres zootechniques ont été suivis.



**Figure 51.** Types d'aliments commerciaux utilisés comme témoins positifs : (A) GARDON (1.5 mm pour alevins) et (B) PREMIUM COARSE (6.0 mm pour adulte) de la marque Coppens (d'origine : Allemagne).

### 2.4.1 Procédé de la fabrication des aliments

Toutes les matières premières en poudre (sauf l'huile) entrant dans la composition des aliments sont pesées et mélangées entre elles puis l'huile est ajoutée. De l'eau est ensuite incorporée au mélange afin d'obtenir une pâte adaptée au pressage. Les filaments résultants du pressage sont ensuite séchés à 35°C et coupés en granulés à l'aide d'un mixeur (Voir les étapes de préparation en Annexe II. Fig.2). Ces granulés sont ensuite calibrés à l'aide de plusieurs tamis métallique, pour obtenir des particules de différentes tailles (Fig. 52).

**Tableau 19.** Composition des rations expérimentales à densité constante de protéines, quantités en g/kg de farine.[ **CMV** : Compléments Minéraux et Vitaminiques ; **HPC<sub>Ac</sub>** : Hydrolysats protéiques issue de l'hydrolyse acide (Pepsine) des co-produits de crevette ; **HPT<sub>Al</sub>** : Hydrolysats protéiques issue de l'hydrolyse alcalin (Savinase) des co-produits de crevette; **FT**: farine de thon]

| Composition (%)                   | Rations préparés |       |       |
|-----------------------------------|------------------|-------|-------|
|                                   | A1               | A2    | A3    |
| Son de blé                        | 12               | 12    | 12    |
| Farine de maïs                    | 25               | 30    | 14    |
| Tourteau de soja                  | 35               | 35    | 24,5  |
| HPC <sub>Ac</sub>                 | 25               |       |       |
| HPT <sub>Al</sub>                 |                  | 20    |       |
| FT + HPC <sub>Ac</sub> (9/1, w/w) |                  |       | 45    |
| Phosphate bicalcique              | 0                | 0,8   | 1     |
| Carbonate de calcium              | 0                | 1     | 1,5   |
| Huile de soja /poisson            | 2                | 0,2   | 1     |
| CMV                               | 1                | 1     | 1     |
| <b>Composition analytique</b>     |                  |       |       |
| Matières minérales (%)            | 5,02             | 4,07  | 5,33  |
| Matières protéiques (%)           | 40,50            | 41,34 | 44,37 |
| Matières grasses (%)              | 11,92            | 13,5  | 14,21 |



**Figure 52.** Types de tailles de l'aliment fabriqué au niveau du laboratoire.

### 2.5 Fréquences de nourrissage

Les expériences ont été menées sur des alevins de masse initiale maximale de  $0,22 \pm 0,14$  g et de taille initiale maximale de  $2,6 \pm 0,3$  cm. Au total, 1000 alevins de tilapia rouge ont été sélectionnés et réparties dans cinq bassins à raison de 200 individus par bassin. La biomasse moyenne initiale était de 44 g par bassin.

Les poissons ont été nourris trois à quatre fois par jour pendant la période expérimentale à un taux d'alimentation qui varie selon le poids corporel du poisson. La croissance du poisson a été contrôlée en pesant le poids, la taille et la biomasse du poisson toutes les deux semaines. Selon les études réalisés par Rakocy (1989) et Lazard (2007), nous avons estimés les rations alimentaires optimales quotidiennes de 15% de la biomasse pour un poids d'alevins de moins de 5 g, elles deviennent plus faible (10% de biomasse) pour des poids de juvéniles entre (5 et 20 g), pour devenir (4%) pour un poids de poisson de plus de 20 g.

### 2.6 Estimation des performances zootechniques

Après 4 mois d'élevage, différents paramètres ont été calculés pour suivre la croissance de tilapia (le taux de survie, le gain de poids, le ratio de conversion alimentaire et le coefficient d'efficacité protéique ont été déterminés pour chaque bassin comme suit (Rosenfeld et *al.*, 1997 ; Cruz-Suárez et *al.*, 2007) :

#### ➤ Gain de poids

La croissance pondérale de tilapia a été déterminée en pesant les poissons.

#### ✓ Gain moyen quotidien (GMQ)

Le gain moyen quotidien (GMQ) ou taux de croissance journalier (TCJ) représente le gain moyen de poids quotidien obtenu durant la durée de l'élevage. Il se traduit par l'équation :

$$\text{GMQ (g/j)} = (\text{Poids moyen final} - \text{Poids moyen initial}) / \text{Durée de l'expérimentation}$$

✓ **Gain de poids absolu (GPA):** Appelé couramment gain de poids moyen, ce critère permet d'évaluer la croissance pondérale des poissons pendant un temps donné. Il est calculé à partir de la formule ci-dessous :

$$\text{GPA (g)} = \text{Poids moyen final} - \text{Poids moyen initial} \quad (\text{IV.2})$$

➤ **Taux de croissance spécifique (TCS)**

Ce coefficient permet d'évaluer le poids gagné par le poisson durant l'expérience, en pourcentage de son poids vif.

$$\text{T.C.S. (\%/j)} = \frac{[\ln (\text{poids final}) - \ln (\text{poids initial})] \times 100}{\text{Durée de l'expérience en jours}}$$

- **Taux de survie**

Le taux de survie est calculé à partir du nombre total de poissons à la fin de l'expérience et de l'effectif en début d'élevage, selon la relation ci-dessous :

$$\text{Taux de survie} = (\text{Nombre de survivants} \times 100) / \text{Nombre initial de tilapia}$$

- **Consommation alimentaire journalière (CAJ) :**

$$\text{CAJ} = (\text{Aliment distribué/X jours (g)} - \text{Aliment refusé/X}) / \text{X jours}$$

- **Indice de conversion ou Indice de consommation (IC)**

L'efficacité d'un aliment est exprimée par la valeur du coefficient de conversion alimentaire, appelé également quotient nutritif (QN). Au sens mathématique du terme, l'IC est l'inverse de l'efficacité alimentaire, est défini comme le rapport entre la quantité d'aliment sec consommé par unité de gain de poids absolu du poisson. Il permet de donner une idée de l'efficacité alimentaire d'un aliment ou d'une stratégie alimentaire.

**Indice de Consommation (IC)**

$$\text{IC} = \frac{\text{Aliment consommé pendant une période(g)}}{\text{Gain de poids durant la même période}}$$

- **Coefficient d'Efficacité Protéique (CEP)**

Le Coefficient d'Efficacité Protéique d'un aliment est le rapport entre le gain de poids du poisson et la quantité de protéines ingérée. Cette dernière est calculée en multipliant la quantité totale d'aliment utilisée tout au long du test par le pourcentage de protéines dans l'aliment. Selon (alliot et al., 1984), plus la valeur du rapport (CEP) est grande et plus la valeur biologique des protéines est grande.

Le CEP est calculé comme suite :

$$\text{CEP} = \text{Gain de poids (g)} / \text{Protéines ingérées}$$

### 3. Résultats et discussion

#### 3.1 Rendement et qualité biochimique de la farine de thon

La fabrication classique de la farine de poisson obtenue des co-produits de thon rouge, au niveau du laboratoire, nous a permis d'obtenir un produit final de 37 %. Ce résultat est énormément élevé par rapport au rendement obtenu par Ifremer par l'usine de transformation du poisson inter pêche d'un écart de 20% (Guerreiro et Retiere, 1992). D'après la composition chimique de la farine obtenue, en tableau 20, cette dernière est potentiellement riche en protéines (63,54 %) avec une quantité considérable de lipides (13%). Ces valeurs sont intéressantes et vont être prises en considération dans la fabrication de l'aliment de tilapia.

**Tableau 20.** Composition biochimiques exprimé en (%) de la farine de thon en poudre par rapport à la matière sèche.

| Composition    | matière sèche | Cendre     | Lipides     | Protéines    |
|----------------|---------------|------------|-------------|--------------|
| Farine de thon | 90,33 ± 1,33  | 8,96 ± 0,7 | 13,2 ± 0,52 | 63,54 ± 1,09 |

#### 3.2 Perfectionnement des aliments expérimentaux pour tilapia

Les fractions obtenues lors des hydrolyses des co-produits de thon et de crevette, ainsi que la farine de thon sont utilisées pour étudier leur efficacité en aquaculture. L'incorporation des dérivés de l'hydrolyse enzymatique des co-produits de thon et de crevette dans les différentes rations lors de la formulation d'aliment conduit à la production de farine avec une densité protéique variable, allant de 40,50 à 44,37 % de protéines. Ces valeurs sont plus supérieures que le taux de protéines dans l'aliment commercial (35 à 40%) (Tab.3 Annexe II).

Tandis que la teneur en lipides varie de 11,92 à 14,21 % par rapport à la matière sèche pour les différentes rations préparées.

#### 3.3 Contrôle de croissance du poisson tilapia

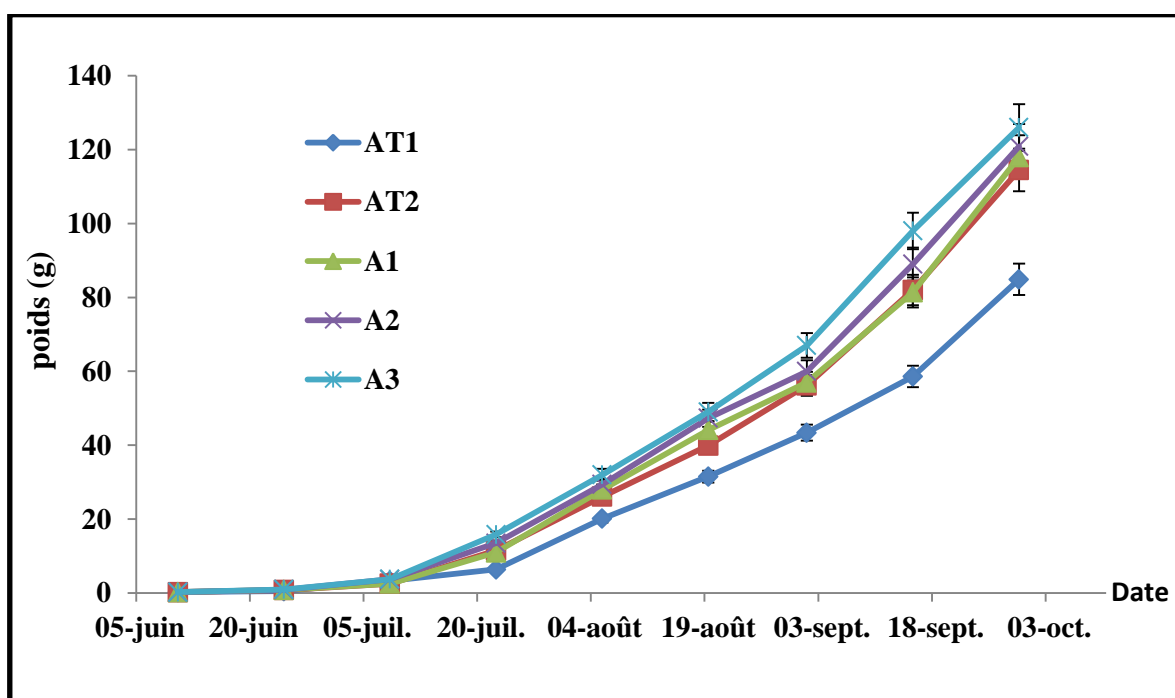
##### 3.3.1 Croissance pondérale des poissons

La croissance du poids moyen des poissons dans tous les bassins montre que durant toute l'expérimentation, les courbes représentatives des cinq systèmes ont présenté la même tendance ascendante (Fig. 53). Durant le premier mois, les poissons ont eu presque les mêmes

poids dans la totalité des bassins. Pendant les 15 jours qui suivent, une séparation nette a été observée au niveau de la courbe des alevins alimentés par l'aliment à base végétale. Après le 60<sup>ème</sup> jour, l'évolution du poids des poissons alimentés par les rations à base de protéines animales (AT2, A1, A2 et A3), a pris une vitesse marquée par une légère différence de croissance entre eux.

Bien que les poids des alevins initiaux soient identiques dans les différents bassins, la croissance en fin d'expérimentation des poissons élevés avec aliment à base d'hydrolysats protéiques est nettement plus élevée que celle obtenue en bassin alimenté par aliment traditionnel (aliment témoin négatif AT1), avec un écart de 33 à 40 g après quatre mois d'essai (Voir composition de l'aliment à base de protéines végétale en AnnexeII.Tab.4).

Concernant la croissance des tailles des alevins des différentes rations alimentaires étudiées, aucune anomalie n'a été observée. Les courbes suivent la même tendance croissante en taille durant toute la période de l'étude. Nos poissons évolus de la meme manière en taille, mais en prenant des poids différents selon la ration alimentaire suivie (Annexe II. Fig.1 ; Tab.5 et 6).



**Figure 53.** Courbes de croissance en masse corporelle de tilapia (*Oreochromis sp*) alimenté par différent aliment pendant quatre mois d'expérience. **AT1** : aliment témoin négatif, **AT2** : aliment témoin positif, **A1** : aliment à base d'hydrolysat de crevette ; **A2** : aliment à base d'hydrolysat de thon et **A3** : aliment à base de farine de thon et d'hydrolysat de crevette.

### 3.4 Performances zootechniques du tilapia

Les différents paramètres étudiés pour évaluer les performances zootechniques des poissons nourris avec les rations expérimentales sont résumés dans le Tableau 21 pour une formulation à densité protéique constante.

D'après ce tableau, il ressort que l'enrichissement de l'aliment de tilapia élevé avec des dérivés des co-produits de thon et de crevette améliore leur gain de poids. En effet, comparé au témoin nourris selon le mode traditionnel à base de protéines végétales, le gain de poids quotidien des poissons augmente lorsqu'ils sont nourris avec les rations expérimentales contenant de la farine de thon et des hydrolysats protéiques issues des co-produits de thon et de crevette.

D'après les résultats obtenus, le taux de survie des alevins montre des valeurs très élevées entre 98,5 et 100 %. Durant toute l'expérience, le taux de mortalité relevé est dû à une mauvaise manipulation pendant les premiers jours en répartissant les poissons dans leurs bassins.

**Tableau 21.** Performances zootechniques de tilapia nourris avec des rations expérimentales. [GMQ : Gain Moyen Quotidien ; TCS : taux de Consommation spécifique ; IC : Indice de Consommation ; CAJ : Consommation Alimentaire Journalière ; GPA : Gain de Poids absolu ; CEP : Coefficient d'efficacité protéique ; AT1 : aliment témoin négatif, AT2 : aliment témoin positif, A1 : aliment à base d'hydrolysat de crevette ; A2 : aliment à base d'hydrolysat de thon et A3 : aliment à base de farine de thon et d'hydrolysat de crevette].

|                              | AT1                      | AT2                        | A1                       | A2                         | A3                      |
|------------------------------|--------------------------|----------------------------|--------------------------|----------------------------|-------------------------|
| <b>Survie (%)</b>            | 99                       | 98,5                       | 99,5                     | 100                        | 100                     |
| <b>Poids initial (g)</b>     | 0,22 ± 0,04              | 0,22 ± 0,06                | 0,22 ± 0,04              | 0,22 ± 0,06                | 0,22 ± 0,05             |
| <b>Poids final (g)</b>       | 84,9 <sup>e</sup> ± 0,88 | 114,5 <sup>cd</sup> ± 2,12 | 118 <sup>bc</sup> ± 2,87 | 120,9 <sup>ba</sup> ± 1,73 | 126 <sup>a</sup> ± 1,63 |
| <b>Biomasse initiale (g)</b> | 44 ± 08                  | 44 ± 12                    | 44 ± 08                  | 44 ± 12                    | 44 ± 10                 |
| <b>Biomasse finale (Kg)</b>  | 16,81 ± 0,17             | 22,56 ± 0,42               | 23,48 ± 0,57             | 24,18 ± 0,34               | 25,20 ± 0,32            |
| <b>GMQ (g/J)</b>             | 0,76                     | 1,03                       | 1,06                     | 1,09                       | 1,13                    |
| <b>TCS (%/J)</b>             | 5,36                     | 5,63                       | 5,66                     | 5,68                       | 5,72                    |
| <b>GPA (g)</b>               | 84,68                    | 114,28                     | 117,78                   | 120,68                     | <b>125,78</b>           |
| <b>CEP</b>                   | 0,12                     | <b>0,088</b>               | <b>0,099</b>             | <b>0,091</b>               | <b>0,083</b>            |
| <b>CAJ (g)</b>               | 7,79                     | 10,50                      | 10,81                    | 11,78                      | 12,76                   |
| <b>IC</b>                    | 1,27                     | 1,26                       | <b>1,25</b>              | 1,31                       | 1,36                    |

Les moyennes avec lettres différentes (a-e) dans une ligne indiquent une différence significative ( $p \leq 0,05$ ).

La ration A3 produit le gain de poids le plus grand parmi les rations étudiées, suivie de près par la ration A2. Ces 2 rations sont constituées principalement par les dérivés des co-produits de thon (hydrolysat et farine). Pour l'aliment à base des hydrolysats issus des co-produits de crevette, il conduit à un gain de poids similaire à celui obtenu par l'aliment commercial « COPPENS ».

En ce qui concerne la consommation des aliments, on note que les aliments (A2) et (A3), dont la préparation des aliments est à base d'hydrolysat (HPT<sub>AI</sub>) et de mélange de l'hydrolysat (HPC<sub>Ac</sub>) et de la farine de thon, respectivement, présentent les meilleures consommations par les alevins.

L'effet de l'alimentation sur la croissance des animaux est dû à la disponibilité des protéines (Rosenfeld et *al.*, 1997 ; Gernat et *al.*, 2001 ; Oduguwa et *al.*, 2004). C'est la même remarque portée sur la croissance de nos alevins selon leur régime. En effet, les alevins qui ont été nourris par l'aliment à base végétale, présentent une valeur faible en gain de poids moyen quotidien (GMQ) (0,76 g), indiquant une croissance moins rapide dû à la faible digestibilité des protéines végétale que les protéines animales (Rosenfeld et *al.*, 1997). Avec l'addition des sources de protéines animales (hydrolysats et farine de poisson), les gains de poids des poissons sont tous supérieurs de 2,24 g de différence à celui des poissons nourris par l'aliment témoins à base de farine végétale (AT1).

Les différences obtenues en taux de croissance spécifique, ont donné respectivement 5,63 ; 5,66 et 5,68 pour les régimes alimentaires expérimentaux AT2, A1 et A2. L'aliment A3 a le meilleur taux de croissance spécifique, et que l'aliment témoin AT2 a toujours donné les mêmes performances que notre aliment préparé avec les hydrolysats protéiques issues des co-produits de crevette (HPC<sub>Ac</sub>). Les gains de poids inférieurs peuvent s'expliquer par la consommation alimentaire très faible des alevins avec les rations fabriqués à base de protéines végétales. En effet, la CAJ (consommation alimentaire journalière) des alevins est de 7,79 pour la ration AT1 contre 10,5 et 10,81 g respectivement pour les rations AT2 et A1 (aliment commercial et aliment à base de crevette). Et les meilleurs CAJ sont obtenus pour les alevins nourris par les aliments à base de thon (A2 et A3) (11,78 et 12,76 g respectivement). La faible consommation alimentaire des poissons pourrait être causée par le manque d'appétence des rations.

L'indice de consommation se traduit par la conversion de la ration en masse de poisson. Plus l'indice de consommation est faible, plus l'aliment est converti en gain pondéral. Pour les rations expérimentales, l'indice de consommation obtenu avec la ration A1 confectionnée avec l'hydrolysate de crevette est l'gèrement faible par rapport aux autres rations (1,25). Donc pour un poids de 1 Kg de poisson il nous faut 1,25 Kg d'aliment.

Concernant les coefficients d'efficacité protéique, on a remarqué que les deux aliments (A3 et AT2) à base de farine de poisson ont donné des valeurs similaires, malgré que la source de protéines animales est différente. L'aliment commercial est en général, fabriqué avec des poissons Carpe entiers et que notre farine est à base de coproduits seulement. Alors que, les hydrolysats protéiques de coproduit de thon et de crevette incorporés dans les aliments (A1 et A2), reflètent une valeur biologique importante de leurs protéines, cela est interprété par la valeur élevée du coefficient d'efficacité protéique (0,099 et 0,091).

L'introduction des hydrolysats protéiques dans les aliments est avérée intéressante car elle permet d'améliorer les qualités nutritionnelles de l'aliment ce qui se traduit par un impact positif sur la croissance. De nombreuses études sur les effets positifs de l'inclusion de tels hydrolysats dans l'alimentation des poissons d'élevage sont menées (Aksnes et *al.*, 2006; Srichanun et *al.*, 2014; Refstie et *al.*, 2004), alors que d'autres ne rapportent pas de tels effets (Savoie et *al.*, 2006).

**CONCLUSION GENERALE  
ET PERSPECTIVES**

## CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Les hydrolysats protéiques issus des co-produits de la pêche et de l'aquaculture sont des ingrédients à fort potentiel nutritionnel pour l'alimentation des poissons et des crustacés d'élevage ainsi que des sources prometteuses de protéines, attractives pour les industries agroalimentaire, cosmétique et pharmaceutique.

L'objectif de cette étude ciblée la valorisation des co-produits de thon rouge et de crevette rouge, espèces très consommées et appréciées par la communauté algérienne. A l'issue de ce travail de recherche, on a pu développer des approches méthodologiques afin de déterminer la composition protéique hydrolytique des co-produits de deux espèces étudiées et d'évaluer leur impact physiologique sur un poisson d'élevage aquacole, le Tilapia rouge, espèce très reconnue, ces dernières années, en Algérie. D'autres domaines d'applications ont été explorés pour rechercher dans les co-produits de thon et d'autres fractions résultantes des co-produits de la crevette comme: la chitine et le chitosane, des propriétés antimicrobiennes et des activités antioxydantes.

Les premiers résultats sur la composition biochimique des co-produits de la crevette et de thon pêchés au niveau de la côte de Mostaganem, sont en accord avec celles rapportées dans la littérature, avec une prédominance de protéines, dont la protéolyse enzymatique constitue alors une voie intéressante pour leur valorisation. De ce fait ce travail a permis d'obtenir pour la première fois des informations sur la composition des hydrolysats enzymatiques des deux co-produits.

Aussi, l'utilisation de deux différentes protéases commerciales, notamment la Pepsine et la Savinase, dans l'hydrolyse des deux co-produits, a montré qu'indépendamment de l'enzyme utilisée, l'hydrolyse des co-produits utilisés conduit à différents degrés d'hydrolyse et à la génération de deux importantes phases : une phase soluble contenant en majorité les protéines ainsi que les peptides et acides aminés générés au cours de la protéolyse, et une phase insoluble renfermant les résidus des deux co-produits, notamment la chitine, les protéines insolubles résiduelles ainsi que les lipides initialement présents dans les co-produits.

Les deux hydrolysats étudiés ont une composition originale très différente puisque l'un est produit à partir des carapaces et têtes d'un crustacé marin, la crevette rouge *Aristeus antennatus* et l'autre à partir des co-produits incluant les têtes, peaux, queues et arêtes d'un poisson marin, le thon rouge *Thunnus thynnus*.

L'hydrolyse a permis la concentration des lipides dans la phase insoluble, produisant ainsi des hydrolysats pauvres en lipides et offrant la possibilité de leur extraction dans le culot.

On a aussi montré que la meilleure solubilisation des protéines a été améliorée par l'hydrolyse des co-produits de thon effectuée en milieu alcalin, et par l'hydrolyse des co-produits de crevettes effectuée en milieu acide, dont l'analyse des acides aminés contenus dans ces deux hydrolysats a permis de constater que la qualité des protéines est améliorée par l'augmentation du pourcentage des acides aminés indispensables et des acides aminés exhausteurs de goût. Pour ces raisons, ces deux hydrolysats sont recommandés pour des utilisations comme adjuvants dans les formules alimentaires aquacoles.

Dans un premier temps les travaux de recherches de cette thèse, ont permis d'aboutir à une forme de caractérisation (i) de la fraction protéique, (ii) de leur propriétés antimicrobiennes et (iii) de leur capacité de piégeage du DPPH des co-produits issus des deux espèces thon et crevette. Il a été constaté que selon le degré d'hydrolyse, les hydrolysats présentent une bonne capacité antioxydante, et il serait intéressant de réaliser d'autres tests d'activités antioxydantes, en termes de pouvoir réducteur, d'activités chélatantes des métaux, de protection du bêta-carotène, d'inhibition de la peroxydation des lipides et du test de rupture de l'ADN etc... Ces caractéristiques sont précieuses pour expliquer (prédire) leurs propriétés, ce qui en fait des candidats potentiels pour des applications médicales et alimentaires.

Et dans un deuxième temps, nous avons optimisé l'étape de déprotéinisation de la chitine obtenue à partir des co-produits de la crevette rouge *Aristeus antennatus*. L'ensemble des essais réalisés au cours de cette partie du travail, a permis de conclure que l'hydrolyse enzymatique des co-produits de la crevette constitue une voie captivante pour leur valorisation et que leur qualité par la concentration des protéines dans la fraction soluble, conduit à la déprotéinisation et la déminéralisation partielle des co-produits, ce qui est favorable pour l'extraction de la chitine. Et que, les différents chitosanes présentent des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes dépendantes de leurs degrés de désacétylation, de leur degré de déprotéinisation et de déminéralisation ainsi que leur solubilité dans de l'acide acétique.

Quant à la troisième partie, consacrée à la valorisation des résidus (fractions insolubles) obtenus lors de l'hydrolyse enzymatique des co-produits de thon rouge. Ces fractions

présentent des teneurs en protéines non négligeable, et les rendent récupérables. Ce qui leur donne une valeur biologique remarquable.

L'étude de la qualité protéique de ces concentrés (isolats) ainsi que des résidus de l'hydrolyse enzymatique en milieux de culture microbiologique, a confirmé la richesse protéiques de ces derniers par la présence d'un développement bactérien intéressant. Nous avons essayé également, de valoriser, en deuxième temps, les co-produits de thon comme source de bactérie à intérêts industriels, tel que le développement de la croissance d'une bactérie lactique (bacille, à gram+, catalase négatif et thermophile). L'ensemble de ces résultats, montre l'intérêt biologique de ces co-produits (et leur dérivés). Donc, plusieurs composés et dérivés de l'hydrolyse enzymatique des co-produits de thon et de crevette, peuvent donc être mis en valeur grâce à différentes méthodes d'extraction et de traitement. Cette étude montre le fort potentiel d'obtention d'une variété de produits valorisés, en plus de l'hydrolysate protéique, provenant de ces co-produits.

Et enfin l'étude des performances *in vivo* des hydrolysats de crevette et de thon dans l'utilisation de ces derniers dans l'alimentation du tilapia d'élevage, a montré l'intérêt des deux hydrolysats comme ingrédients de substitution aux farines de poisson pour l'alimentation des poissons d'élevage.

L'introduction de ces hydrolysats dans un aliment à base de farine d'origine végétale permet d'obtenir des performances de croissance comparables à celles obtenues avec un aliment commercial fabriqué à base de farine de poisson. Alors que l'incorporation d'hydrolysate de crevette à l'aliment à base de farine de poisson, fabriquée de manière classique par les co-produits de thon, permet d'obtenir de meilleures performances de croissance du poisson tilapia.

Par conséquent, grâce aux expériences de l'alimentation aquacole, l'intérêt des hydrolysats des co-produits de crevette et de thon comme ingrédient pour l'alimentation des poissons d'élevage a pu être démontré. De très nombreuses études ont été menées chez diverses espèces de poissons pour comprendre l'impact d'un régime alimentaire sur la croissance des animaux. Néanmoins, les résultats sont très variables d'une étude à l'autre et semblent dépendre de nombreux facteurs : espèces, stade de développement, aliments utilisés en contrôle ....

La caractérisation *in vitro* des hydrolysats ainsi que l'étude de leurs performances *in vivo* sont deux approches complémentaires pour évaluer le potentiel d'un hydrolysat. Les travaux réalisés dans cette thèse, ciblés sur deux hydrolysats, ont permis d'aborder ces deux aspects.

Cependant, ce travail est loin d'être exhaustif, pour cela, d'autres études sont en cours de réalisation, au niveau du laboratoire «Protection, Valorisation des Ressources Marines Littorales et Synthèse Moléculaire» de l'université de Mostaganem, portant sur le développement des perspectives ci dessous :

- ✓ La mise en place d'une expérimentation associant un conditionnement alimentaire à base de chitosane de manière à confirmer le potentiel nutritionnel et de mettre en évidence un éventuel effet protecteur de ces ingrédients fonctionnels vis-à-vis des germes pathogènes.
- ✓ Une expérimentation sur l'impact physiologique des aliments d'origine d'hydrolysat inclus dans l'alimentation chez les poissons, pourrait apporter des informations précieuses. Le lien entre le profil peptidique de l'hydrolysat et l'impact au niveau physiologique mériterait d'être approfondi, toujours dans le souci d'améliorer les conditions d'élevage et la qualité du produit final.
- ✓ L'exploitation d'autres activités biologiques des hydrolysats en termes de peptide bioactive et la possibilité d'application de ces derniers dans le domaine médicale ou l'alimentation humaine.
- ✓ La conduite d'hydrolyse enzymatique en présence de d'autres enzymes notamment les lipases.
- ✓ Etudier l'activité et le pouvoir antimicrobien contre la flore d'altération ou pathogène de la bactérie lactique isolée, dans le but de développer des applications en biopréservation.

Ainsi, ce travail ouvre également de nouvelles perspectives dans un avenir proche d'élargir les palettes fonctionnelles des aliments destinés surtout à l'élevage de poissons marins de manière à répondre aux besoins spécifiques et sans cesse croissants de l'aquaculture de la dorade et de loup de mer, vu que ces derniers sont en pleins développement en Algérie.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Ababsa A., 2012.** Recherche de bactériocines produites par les bactéries lactiques du lait. *Memoire de magister*. Universite Ferhat Abbas- Setif, Algérie, pp111.
- Abdelhedi O., Jridi M., Jemil I., Mora L., Toldrá F., Boualga A., Nasri M., Nasri R., 2016.** Concepción Aristoy, Combined biocatalytic conversion of smooth hound viscera: Protein hydrolysates elaboration and assessment of their antioxidant, anti-ACE and antibacterial activities. *Food Research International*,8:9-23. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2016.05.013>.
- Abdul HamidA., Bakar J., Bee G.H., 2002.** Nutritional quality of spray dried protein hydrolysate from Black Tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Food Chemistry*, 78(1):69-74. DOI: 10.1016/S0308-8146(01)00380-6.
- Adler-Nissen J., 1986.** Methods in food protein hydrolysis. In *Enzymatic hydrolysis of food proteins*, pp. 110-130. New York: Elsevier Applied Science Publishers.
- Ahn C.B., Cho Y.S., & Je J.Y., 2015.** Purification and anti-inflammatory action of tripeptide from salmon pectoral fin byproduct protein hydrolysate. *Food Chemistry*, 168 : 151-156.
- Akihide K., Hill E., Fujiwara T., Simpson J.H., 2000.** Effect of the Earth's rotation on the circulation in regions of freshwater influence. *Journal of Geophysical Research Atmospheres*, 105(C7):16961-16969. DOI: 10.1029/2000JC90005.
- Aksnes A., Hope B., Jonsson E., Bjornsson B., et Albrektsen, S., 2006.** Size-fractionated fish hydrolysate as feed ingredient for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed high plant protein diets. I: Growth, growth regulation and feed utilization. *Aquaculture*, 261(1):305–317.
- Aksnes A., Hope B., Jönsson E., Björnsson B.T., Albrektsen S., 2006.** Sizefractionated fish hydrolysate as feed ingredientfor rainbow trout(*Oncorhynchus mykiss*) fed high plant protein diets. I: growth, growth regulation and feed utilization. *Aquaculture* 261: 305-317.
- Al-Sagheer F.A., Al-Sughayer M.A., Muslim S., Elsabee M.Z., 2009.** Extraction and characterization of chitin and chitosan from marine sources in Arabian Gulf., *Carbohydr Poly* 77(2): 410-419.
- Alliot E., Thebault H., Pastoureaud A., 1985.** Quantitative methionine requirement of juvenile sea-bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 15:75-87. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(85\)90154-1](https://doi.org/10.1016/0044-8486(85)90154-1).
- Amar R.B., 2009.** Enzymatic hydrolysis of cuttlefish (*Sepia officinalis*) and sardine (*Sardina pichardus*) viscera using commercial proteases: Effects on lipid distribution and amino acid composition. *J Biosci Bioeng.*, 107(2): 158-64.
- Amiali M., 1999.** Caractérisation des films du chitosane par la perméabilité à la vapeur d'eau et aux gaz (CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>). Mémoire, Département de sciences des aliments et de nutrition Faculté des études supérieures de l'université Laval. 139p.
- Andrieux G., 2004.** Rapport sur la filière française des coproduit de la pêche et de l'aquaculture : état des lieux et analyse, OFIMER, Paris.
- Aneiros A., Garateix A., 2004.** Bioactive peptides from marine sources: pharmacological properties and isolation procedures. *Journal of Chromatography B*, 803: 41-53.

**AOAC., 1990.** Official methods of analysis of the AOAC, 15th ed. Methods 932.06, 925.09, 985.29, 923.03. *Association of official analytical chemists*, Arlington, VA, USA.

**AOAC., 2000.** Official methods of analysis of AOAC Intl. 17th ed. Washington, DC: *Association of Official Analytical Chemists*, Washington DC, USA.

**Apria., 1979.** Microbiologie et industries alimentaire: Production de nucleotides, d'arômes, d'enzymes et d'autres corps spécifiques par les microorganismes. Tome 3. APRIA Ed., Paris. pp 162.

**Archer M.R., Russel D., 2007.** Crustacea processing waste management. SEAFISH Research and Development, United Kingdom, pp. 23.

**Aspmo S.I., Horn S.J., Eijsink V.G.H., 2005.** Enzymatic hydrolysis of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) viscera. *Process Biochem.*, 40: 1957-66.

**Azaza M.S., & Kraiem M., 2007.** Etude de la tolérance a la température et a la salinité chez le tilapia du Nil *Oreochromis niloticus* (L.) élevé dans les eaux géothermales du sud tunisien. <https://www.researchgate.net/publication/277127394>.

**Azaza M.S., 2004.** Tolérance à la température et à la salinité chez le tilapia du Nil (*Oreochromis niloticus* L., 1758) en élevage dans les eaux géothermales du sud tunisien, Master de la Faculté des Sciences de Tunis., 110 p.

**Azim O.M.E., Verdegem M.C.J., Singh M., Van Dam A.A. and Beveridge M.C.M., 2003.** The effect of periphytonsubstrate and fish stocking density on water quality, phytoplankton, periphyton and fish growth. *Aquacult. Res.*, 34 : 685-695.

**Babu C.M., Chakrabarti R., Sambasivarao K.R.S., 2008.** Enzymatic isolation of carotenoid-protein complex from shrimp head waste and its use as a source of carotenoids Chokkara. *LWT- Food Science and Technology*, 41(2):227-235.DOI: 10.1016/j.lwt.2007.03.006.

**Baek H.H., Cadwallader K.R., 1995.** Enzymatic hydrolysis of crayfish processing by-products. *Journal of Food Science*, 60: 929-935.

**Balarin J.D., & Hatton J.P., 1979.** Tilapia. A guide to their biology and culture in Africa, University of Stirling (ed.), Stirling Scotland, 174 p.

**Barefoot S. F., Klaenhammer T. R., 1983.** Detection and activity of lacticin B, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidiphilus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 45(6) : 1808-1815.

**Barros L., Calhelha R.C., Vaz J.A., Ferreira I.C.F.R., Baptista P., Estevinho L.M., 2007.** Antimicrobial activity and bioactive compounds of Portuguese wild edible mushrooms methanolic extracts. *European Food Research and Technology*, 225(2): 151-156. <https://doi.org/10.1007/s00217-006-0394-x>.

**Benhamou N. & Lafontaine P.J., 1995.** Ultrastructural and cytochemical characterization of elicitorinduced structural responses in tomato root tissues infected by *Fusarium oxysporum* f. sp., *Radicis-lycopersici.Planta*, 197 : 89-102.

**Bensaha S., 2010.** La décontamination des eaux usées sur un support naturel. Laboratoire de Chimie Inorganique et Environnement. Mémoire de Magister. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen. 119p.

- Berghe V. A., Vlieinck A. J., 1991.** Screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. *Method for Plant Biochemistry*, 6: 47-68.
- Berthe F.C.J., Pernas M., Zerabib M., Haffner P., Thébault A. & Figueras A.J., 1998.** Experimental transmission of *Marteilia refringens* with special consideration of the life cycle., *Diseases of Aquatic Organisms*, 34 : 135-144.
- Bhatnagar A., Sillanpaa N., 2009.** Applications of chitin and chitosan-derivates for the detoxification of water and wastewater. A review. *Advances in colloid and interface science*, 152 (1-2):26-38.
- Black M.M., Schwartz H.M., 1950.** The estimation of chitin and chitin nitrogen in crawfish waste and derived products. *Analyst*, 75(889):185-189.
- Block B.A., Dewar H., Blackwell S.B., Williams T.D., Prince E.D., Farwell C.J., Boustany A. et al., 2001.** Migratory Movements, Depth Preferences, and Thermal Biology of Atlantic Bluefin Tuna. *Science*, 293: 1310-1314.
- Block B.A., Teo S.L.H., Walli A., Boustany A., Stokesbury M.J., Farwell C.J., Weng K.C. et al. 2005.** Electronic tagging and population structure of Atlantic bluefin tuna. *Nature*, 434:1121-1127.
- Bordenave N., 2009.** Chitin and chitosan. FS630. Room 3151.
- Bouix M., Leveau J-Y., 1991.** Les levures Dans : Bourgeois C.M., Leveau J.Y., Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. *Ed. édition 2 Lavoisier-Tec & Doc, Pari,3*: 206-229.
- Bourel G., Henini S., Krantar K., Oraby M., Divies C., Garmyn D., 2001.** Métabolisme sucre-citrate chez *Leuconostoc mesenteroides*. *INRA EDP Sciences*, 75-82 pp.
- Bourgeois E., 1996.** « Identité et apprentissage ». *Education permanente*, 128: 27-35.
- Boustany A.M., Marcinek D.J., Keen J., Dewar H. and Block B.A., 2001.** Movements and temperature preferences of Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) off North Carolina: A comparison of acoustic, archival and pop-up satellite tags, Pages 89-108 in Sibert, J. R. and J. L. Nielsen, eds. *Electronic tagging and tracking in marine fisheries*. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers.
- Brill R.W., Lutcavage M. E., Metzger G., Bushnell P.G., Arendt M., Lucy J., Watson C., et al., 2001.** Horizontal and vertical movements of juvenile bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) in relation to oceanographic conditions of the western North Atlantic, determined with ultrasonic telemetry. *Fishery Bulletin*, 100: 155- 167.
- Brine C.J. & Austin P.R., 1981.** Chitin Isolates: Species Variation in Residual Amino Acids. *Comparative Biochemistry and Physiology BBiochemistry & Molecular Biology*, 70(2) : 173-178.
- Broadasky T.F., Lewis C., Eble T.E., 1976.** Bioautographic thin layer chromatographic analysis of antibiotics and their metabolites in the whole animal. I Clindamycin in the rat. *J.Chromatogr.*, 123: 33-44.
- Brugnerotto J., Lizardi J., Goycoolea F.M., Rinaudo M., 2001.** An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. *Polym.*, 42 : 3569-3580.
- Bueno-Solano C., López-Cervantes J., Campas-Baypoli O.N., Lauterio-García R., Adan-Bante N.P., & Sánchez-Machado D.I., 2009.** Chemical and biological characteristics of protein hydrolysates from fermented shrimp by-products. *Food Chemistry*, 112: 671-675.

- Cao W., Zhang C., Hong P., Ji H., 2008.** Response surface methodology for autolysis parameters optimization of shrimp head and amino acids released during autolysis. *Food Chemistry*, 109:176-183.
- Cao W., Zhang C., Hong P., Ji H., Hao J., Zhang J., 2009.** Autolysis of shrimp head by gradual temperature and nutritional quality of the resulting hydrolysate. *LWT - Food Science and Technology*, 42, 244-249.
- Cárdenas G., Díaz J., Meléndrez M.F. & Cruzat C., 2008.** Physicochemical properties of edible films from chitosan composites obtained by microwave heating., *Polym. Bull.*, 61(6):737-748.
- CASFM., 2015.** Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Institut Pasteur, Paris, 116 pp.
- Chapman A., 2003** - Culture of hybrid Tilapia : reference profile. *IFAS extension. University of Florida. Edis.*, 86 p.
- Charo-Karisa H., Komen H., Rezk M.A., Ponzoni R.W., Van Arendonk J.A.M., Bovenhuis H., 2006.** Heritability estimates and response to selection for growth of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in low-input earthen ponds. *Aquaculture*, 261: 479-486.
- Charo-Karisa H., Komen H., Rezk M.A., Ponzoni R.W., Van Arendonk J.A.M., Bovenhuis H., 2006.** Heritability estimates and response to selection for growth of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) in low-input earthen ponds. *Aquaculture*, 261: 479-486.
- Chaucheyras-Durand F., Faqir F., Ameilbonne A., Rozand C. & Martin C., 2010.** Fates of Acid-Resistant and Non-Acid-Resistant Shiga Toxin-Producing Escherichia coli Strains in Ruminant Digestive Contents in the Absence and Presence of Probiotics., *Appl. Environ. Microbiol.*, 76(3):640-647.
- Chaussard G., 2002.** Elaboration de biomatériaux innovants à partir de chitine et chitosane issus de plumes de calmar en vue d'une application biomédicale. Thèse, Université Claude Bernard Lyon 1.
- Chavan M.A., Riley M.A., 2007.** Molecular Evolution of Bacteriocins in Gram-Negative Bacteria, In: *Bacteriocins: Ecology and Evolution*, Riley, M.A., Chavan, M.A. (Eds.), pp. 5-18, ISBN 3-540-36603-2, Heidelberg, Germany.
- Chen M.C., Yeh G.H.C. & Chiang B.H., 1996.** Antimicrobial and physicochemical properties of methylcellulose and chitosan films containing a preservative., *J. Food Proc. Preserv.*, 20(5): 379-390.
- Chen R.H., Changn R., Shyur J.S., 1997.** Effects of ultrasonic conditions and storage in acidic solutions on changes in molecular weight and polydispersity of treated chitosan. *Carbohydr.Res.*, 299(4): 287-294.
- Chenite A., Buschmann M., Wang D., Chaput C., & Kandani N., 2001.** Rheological characterisation of thermogelling chitosan/glycerol-phosphate solutions., *Carbohydrate Polymers*, 46(1) : 39-47.
- Chervinski J., 1982.** Environmental physiology of Tilapia. In: *The biology and culture of Tilapia, ICLARM Conf. Proceed.*, 7:119-128.
- Cheung I.W.Y., & Li-Chan E.C.Y., 2014.** Application of taste sensing system for characterisation of enzymatic hydrolysates from shrimp processing by-products. *Food Chemistry*, 145: 1076-1085.

**Chien P. & Chou C., 2006.** Antifungal activity of chitosan and its application to control postharvest quality and fungal rotting of Tankan citrus fruit (*Citrus tankan hayata*), *Journal of the Science of Food and Agriculture* (86) : 1964-1969.

**Chowdhury D.K., 2011.** Optimal feeding rate for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). MSc thesis. Department of Animal and Aquacultural Sciences, Norwegian University of Life Sciences, Pp 76.

**Colette B.B., Reeb C., and Block B.A., 2001.** Systematics of the tunas and mackerels (scombridae), Pages 1-33 in Block, B. A. and E. D. Stevens, eds. Tuna. Physiology, ecology, and evolution. San Diego, *Academic Press*.

**Coma V., Deschamps A., Martial-Gros A., 2003.** Bioactive packaging materials from edible chitosan polymer. Antimicrobial activity assessment on dairy-related contaminants., *Journal of Food Science*, 68 : 2788-2792.

**CPS 2014.** La valorisation des co-produits de poisson - Note d'orientation de la Secrétariat général de la Communauté du Pacifique, 21. 4p.

**Creswell D., 2005.** The feeding and nutrition of the tilapia. *AQUA Culture AsiaPacific magazine*, November/December, pp. 32-33.

**Crini G., & Badot P.M., 2008.** Application of chitosan, a natural aminopolysaccharide, for dye removal from aqueous solutions by adsorption processes using batch studies : a review of recent literature., *Progress in Polymer Science*, ( 33) : 399-447.

**Crini G., Badot P.M., Guibal E., 2009.** Chitine et Chitosane. Du polymère à l'application: Presses universitaires de Franche-Comté. pp.208.

**Cruz E.M., Ridha M., 1991.** Production of the tilapia *Oreochromis spilurus* Guenther stocked at different densities in sea cages. *Aquaculture*, 99(1/2): 95-103.

**Cruz-Suárez L.E., Nieto-López M., Guajardo-Barbosa C., Tapia-Salazar M., Scholz U., Ricque-Marie D., 2007.** Replacement of fish meal with poultry by-product meal in practical diets for *Litopenaeus vannamei*, and digestibility of the tested ingredients and diets. *Aquaculture*, 272 : 466-476. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2007.04.084.

**CTA., 2012.** Centre Technique de l'Aquaculture : Grossissement du Tilapia du Nil dans les eaux géothermales. Rapport du ministère de l'agriculture et de l'environnement de Tunisie. Tunis, 10p.

**CTA., 2015.** Centre Technique de l'Aquaculture: Echos de l'aquaculture: Optimisation de la production d'alevins de Tilapia du Nil « *Oreochromis niloticus* » dans la station de Boumhel, Tunisie, édition N2, 24p.

**Cuero R.G., 1999.** Antimicrobial action of exogenous chitosan., *EXS*, 87: 315-333.

**Cueva C., Moreno-Arribas M.V., Martin-Alvarez P.Y., Bills G., Vicente M.E., Basilio A., Riva C.L., Requena T., Rodriguez J.M., Bratolome B., 2010.** Antimicrobial activity of phenolic acids against commensal, probiotic and pathogenic bacteria. *Res. Microbiol.*, 161: 372-382.

**Daudpota A.M., Kalhoro I.B., Shah S.A., Kalhoro H., Abbas G., 2014.** Effect of stocking densities on growth, production and survival rate of red tilapia in hapa at fish hatchery Chilya Thatta, Sindh, Pakistan. *J. Fish.*, 2: 180-186.

**Daukšas E., Falch E., Šližyte R., & Rustad T., 2005.** Composition of fatty acids and lipid classes in bulk products generated during enzymic hydrolysis of cod (*Gadus morhua*) by-products. *Process Biochemistry*, 40 : 2659-2670.

**De-Moura M. R., Aouada F.A., Avena-Bustillos R.J., McHugh T.H., Krochta J.M. & Denes A., 2006.** Etude comparée de l'effet de deux protéases sur la production d'hydrolysats dotés d'activités antioxydante et antiradicalaire. Mémoire, l'école pratique des hautes études, France. 45pp.

**Derouiche E., Azaza M.S. Et Kraiem M.M., 2009.** Essai d'acclimatation du tilapia du nil *Oreochromis niloticus* dans la retenue du barrage lebna (cap bon, tunisie), *Bull. Inst. Natn. Scien. Tech. Mer de Salammbô*, 36 : 87-92.

**Devlieghere F., Vermeulen A. & Debevere J. 2004.** Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables, *Food Microbiology* 21 : 703-714.

**Devoyod J. J., Muller M., 1969.** La flore microbienne du fromage de Roquefort. III. Les streptocoques lactiques et les leuconostoc. Influence de différents micro-organismes de contamination. *Le Lait*, 487, 369.

**Di-Mario F., Rapanà P., Tomati U., Galli E., 2008.** Chitin and chitosan from Basidiomycetes. *International Journal of Biological Macromolecules*, 43 : 8-12.

**Diogo R.V.C., Bebo D.B., Elegbe H.A., 2018.** Étude comparée de la productivité de tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) en système intégré poisson-poule et non-intégré dans la commune d'Aplahoué au Sud Bénin. *Afrique Science*, 14(2) : 1-14.

**Du Y.J., Zhao Y.Q., Dai S.C. & Yang B. 2009.** Preparation of water-soluble chitosan from shrimp shell and its antibacterial activity. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 10(1):103-107.

**Dumay J., 2006.** Extraction de lipides en voie aqueuse par bioreacteur enzymatique combiné à l'ultrafiltration: Application à la valorisation de co-produits de poisson (*Sardina pilchardus*). *Thèse de doctorat de l'Université de Nantes*. 305 pp.

**Dumay J., Donnay-Moreno C., Barnathan G., Jaouen P. & Bergé J.P., 2006.** Improvement of lipid and phospholipid recoveries from sardine (*Sardina pilchardus*) viscera using industrial proteases. *Process Biochemistry*, 41 : 2327-2332.

**Durand P., Golinelli-Pimpaneau B., Moulleron S., Badet B. & Badet-Denisot M.A., 2008.** Highlights of glucosamine-6P synthase catalysis. *Arch. Biochem. Biophys.*, 474: 302-317.

**Dutta P.K., Tripathi, S., Mehrotra G.K., Dutta J., 2009.** Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chemistry*, 114: 1173-1182.

**Eaton P., Fernandes J.C., Pereira E., Pintado M.E. & Malcata F. X., 2008.** Atomic force microscopy study of the antibacterial effects of chitosans on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, *Ultramicroscopy*, 108:1128-1134.

**El Sayed A.F., & Mamdouh K., 2004.** Effects of photoperiod on the performance of farmed Nile tilapia *Oreochromis niloticus*: I. Growth, feed utilization efficiency and survival of fry and fingerlings, *Aquaculture*. 231 : 393-402. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2003.11.012.

**El-Sayed H.M., Hakim Y., and El-Sayed B.M., 2014.** Dietary effect of ginger, *Zingiber officinale* Roscoe on growth performance, immune response of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* and disease resistance against *Aeromonas hydrophila*. *Abbassa International Journal for Aquaculture*, 7: 35-52. doi: 10.5829/idosi.wjfm.2014.06.02.83202.

**Elsayed M.A.A., Moustafa Aboelfadl M.S., Selim A.M., Khalil H.F., Elkady G.M., 2018:** Chitosan nanoparticles extracted from shrimp shells, application for removal of Fe(II) and Mn(II) from aqueous phases, *Separation Science and Technology*, DOI: 10.1080/01496395.2018.1489845.

**Ennaas N., Hammami R., Beaulieu L., Fliss I., 2015.** Purification and characterization of four antibacterial peptides from protamex hydrolysate of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*) by-products. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 462: 195-200.

**Ennaas N., Hammami R., Gomaa A., Bedard B., Biron E., Subirade M., Beaulieu L., Fliss I., 2016.** Collagencin, an antibacterial peptide from fish collagen: Activity, structure and interaction dynamics with membrane. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. Xxx: 1-6. Article in press.

**Faithong N., Benjakul S., Phatcharat S., Binsan W., 2010.** Chemical composition and antioxidative activity of Thai traditional fermented shrimp and krill products. *Food Chemistry*, 119: 133-140.

**FAO., 2008.** Climate change and food security: a framework document. 110pp.

**FAO., 2009.,** The state of world fisheries and aquaculture. Rome. 196 pp.

**FAO., 2012.** The State of World Fisheries and Aquaculture. Rome. 209 pp.

**FAO., 2014.** The state of world fisheries and aquaculture, 2 pp.

**FAO., 2016.** A quarterly update on world seafood markets. Globefish Highlights, FIAM/FAO, 72p.

**FAO., 2018.** La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture. résumé. CA0191FR/1/07.18.

**Feist G., Yeoh C.G., Fitzpatrick M.S., & Schreckb C.B., 1995.** The production of functional sex-reversed male rainbow trout with 17 $\alpha$ -methyltestosterone and 11  $\beta$ -hydroxyandrostenedione. *Aquaculture*, 131: 145-152.

**Felt O., Furrer P., Mayer J. M., Plazonnet B., Buri P. & Gurny R., 1999.** Topical use of chitosan in ophthalmology: tolerance assessment and evaluation of precorneal retention., *Int .J. Pharm.*, 180:185-193.

**Fernández M.V., Heras S., Viñas J., Maltagliati F., Roldán M.I., 2013.** Multilocus comparative phylogeography of two aristeid shrimps of high commercial interest (*Aristeus antennatus* and *Aristaeomorpha foliacea*) reveals different responses to past environmental changes. *Plos. One*, 8(3): e59033. doi:10.1371/ journal.pone.0059033.

**Fernandez-Kim S.O., 2004.** Physicochemical and functional properties of crawfish chitosan as affected by processing protocols. Dissertation of MSc.: Graduate Faculty of Seoul National University. p. 107.

**Fleury Y., Defer D., Bourgougnon N., 2008.** Antimicrobial peptides and antiviral activities from marine fished or farmed animals, in “Added Value to Fisheries Waste”, J.P. Bergé Ed., *Transworld Research Network – Indian publisher*. Chapter, 8: 163-196.

**Folch J., Lees M., & Stanley G.H.S., 1957.** A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226 : 497-509.

**Freepons D.E., 1989.** Plant growth regulators derived from chitin. United States Patent, 4 : 812-159.

**Fromentin J.M. And Powers J. E., 2005.** Atlantic bluefin tuna: population dynamics, ecology, fisheries and management. *Fish and Fisheries*, 6: 281-306.

**Fryer G., Iles T., 1972.** The chichlid fishes of the great lakes of Africa. Edinburgh, Oliver and Boyd, 641 P.

**García-Moreno P.J., Batista I., Pires C., Bandarra N.M., Espejo-Carpio F.J., Guadix A., Guadix E.M., 2014.** Antioxidant activity of protein hydrolysates obtained from discarded Mediterranean fish species. *Food Research International*, 65 : 469–476.

**Garvie E.I., 1986a.** Genus *Leuconostoc* van tiegen 1978, 198 al emended mut. Char Hucker and Pederson 1930, 66al. In: *Bergey's manual of Systematic Bacteriology*. Williams and Wilkins, Baltimore, 2: 1071-1075.

**Garvie E.I., 1986b.** Genus *Pediococcus* Claussen 1903, 68AL. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Williams and Wilkins, Baltimore, 2: 1075-1079.

**Gbogouri G.A, Linder M., Fanni J., Parmentier M., 2004.** Influence of hydrolysis degree on the functional properties of salmon by-products hydrolysates. *J Food Sci.*, 69(8): 615-22.

**Gernat A.G., 2001.** The effect of using different levels of shrimp meals in laying hen diets. *Poultry Science*, 80, 633-636.

**Gibert O., Rakshit S.K., 2005.** Cassava starch snack formulation using functional shell fish by-products: mechanical, sorption and geometric properties. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 85: 1938-1946.

**Gildberg A., Stenberg E., 2002.** A new process for advanced utilisation of shrimp waste. *Process Biochemistry*, 36: 809-812.

**Gillett R., 2008.** Global study of shrimp fisheries. FAO, Rome, pp 331.

**Gizatulina G.A., Chebotok E.N., Novikov V.Y., Konovalova I.N., 2005.** Kinetics of Acid Hydrolysis of Acetylglucosamine. *Russian Journal of Applied Chemistry*, 78(5) : 791-793.

**Grimes S., Boutiba Z., Bakalem A., Bouderbala M. Boudjellal B., Boumaza S., Boutiba M., Guedioura A., Hafferssas A., Hemida F., Kaïdi N., Kerzabi F., Khelifi H., Merzoug A., Nouar A., Sellali B., Sellali-Merabtine H., Semroud R., Seridi H., Taleb M.Z. & Touahria T., 2004.** Biodiversité marine et littorale algérienne. Sonatrach-LRSE. Eds. Sonatrach. 362 p.

**Guérard F., Dufossé L., De La Broise D., Binet A., 2001.** Enzymatic hydrolysis of proteins from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) wastes using alcalase. *J Mol Catal B-Enzym.*, 11: 1051-9.

**Guérard F., Guimas L., Binet A., 2002.** Production of tuna waste hydrolysates by a commercial neutral protease preparation. *J Mol Catal B-Enzym.*, 19(20): 489-98.

**Guérard F., Sumaya-Martinez M.T., Laroque D., Chabeaud A., Dufossé L., 2007.** Optimization of free radical scavenging activity by response surface methodology in the hydrolysis of shrimp processing discards. *Process Biochemistry*, 42: 1486-1491.

**Guerreiro M., Retiere L., 1992.** Analyse de la variation de la composition de la farine élaborée à l'usine de transformation du poisson, *Interpêche*. Ifremer/ Interpêche. P 13-17

**Guerreiro M., Retiere L., 1992.** Etude de la farine de poisson : Analyse de la variation de la composition de la farine élaborée à l'usine de transformation du poisson. *Interpêche*. <https://archimer.ifremer.fr/doc/00060/17086/>

**Guiraud J.P., 1998.** Microbiologie alimentaire. Technique et Ingénierie. *Série Agroalimentaire, Eds. Dunod Paris*, 652 p.

**Guiraud J.P., Galzy P., 1980.** L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. *Eds. Usine nouvelle Paris*, 239 p.

**Hajji S., Ghorbel-Bellaaj O., Younes I., Jellouli K., Nasri M., 2015.** Chitin extraction from crab shells by *Bacillus bacteria*. Biological activities of fermented crab supernatants. *Int. J. Biol.Macromol.*, 79: 167-173

**Halpin-Dohnalek M.I., Marth E.H., 1989.** Growth and production of enterotoxin A by *Staphylococcus aureus* in cream. *J Dairy Sci*, 72:2266-75.

**Hamdi M., Hajji S., Affes S., Taktak W., Maaalej H., Nasri M., Nasri R., 2018.** Development of a controlled bioconversion process for the recovery of chitosan from blue crab (*Portunus segnis*) exoskeleton. *Food Hydrocolloids*, 77: 534-548

**Hamdi M., Hammami A., Hajji S., Jridi M., Nasri M., Nasri R., 2017.** Chitin extraction from blue Crab (*Portunus segnis*) and shrimp (*Penaeus kerathurus*) shells using digestive alkaline proteases from *P. segnis* viscera. *Int. J. Boil. Macromol.*, 10: 455-463.

**Han T., Aye K.N., Nwe N., 2008.** Production and effectiveness of SMART® organic fertilizer from marine biowastes. *Journal of Biotechnology*, 136: S590-S590.

**Hartmann R., Meisel H., 2007.** Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications. *Current Opinion in Biotechnology*, 18 : 163-169.

**Hastings W. H., 1973.** Expériences relatives à la préparation d'aliments des poissons et à leur alimentation. *FAO Pub. FI : DP/RAF/66/054/1:24 p.*

**He H., Chen X., Sun C., Zhang Y., Gao P., 2006.** Preparation and functional evaluation of oligopeptide-enriched hydrolysate from shrimp (*Acetes chinensis*) treated with crude protease from *Bacillus sp.* SM98011. *Bioresource Technology*, 97: 385-390.

**He H.L., Wu H., Chen X.L., Shi M., Zhang X.Y., Sun C.Y., Zhang Y.Z., Zhou B.C., 2008.** Pilot and plant scaled production of ACE inhibitory hydrolysates from *Acetes chinensis* and its in vivo antihypertensive effect. *Bioresource Technology*, 99: 5956-5959.

- Heu M.S., Kim J.S., Shahidi F., 2003.** Components and nutritional quality of shrimp processing by-products. *Food Chemistry*, 82: 235-242.
- Heux L., Brugnerotto J., Desbrieres J., Versali M.F., Rinaudo M., 2000.** Solide state NMR for determination of degree of acetylation of chitin and chitosan. *Biomacromol.*, 1: 746-751.
- Hickling C.F., 1960.** The Malacca Tilapia hybrids. *J. Genet.*, 57, 1.
- Hickling C.F., 1960.** The Malacca *Tilapia* hybrids, *J. Genet.*, 57: 1-10.
- Hirano M., 1989,** Objective evaluation of the human voice: Clinical aspects, *Folia Phoniatrica*, 41: 89-144.
- Hirano S., 1989.** *Chitin and chitosan*. Elsevier, New York, NY, États-Unis.
- Holan Z., Votruba J., Vlasakova V., 1980.** New method of chitin determination based on deacetylation and Gas-Liquid-Chromatographic Assay of liberated acetic acid. *Journal of Chromatography*, 190(1):67-76
- Hoyle N.T., Merritt J.H., 1994.** Quality of fish protein hydrolysates from herring (*Clupea harengus*). *Journal of Food Science*, 59: 76-79.
- Huang W.B and Chiu T.S., 1997.** Effects of stocking density on survival growth size variation and productivity of tilapia fry. *Aquaculture research*, 28: 165-173.
- Huet M., 1970.** Traité de pisciculture, 4<sup>ème</sup> édition, Ch. de Wyngaert (Ed.) , Bruxelles, 718p.
- Ifremer., 2011.** Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer. Professionnels de la mer. Rapport annuel.
- Inagake D., Yamada H., Segawa K., Okazaki M., Nitta A., And Itoh T., 2001.** Migration of young bluefin tuna, *Thunnus orientalis* Temminck et Schlegel, through archival tagging experiments and its relation with oceanographic conditions in the Western North Pacific. *Bulletin of Natural Resource Institut of the Far Seas Fisheries*, 38: 53-81.
- Jarroux N., 2011.** Les biopolymères : différentes familles, propriétés et applications. Techniques de l'ingénieur, Paris, Lavoisier., ED. AM 3580-1 à AM 3580-16.
- Je Y., Qian Z.J., Byun H.G., Kim S.K., 2007.** Purification and characterization of an antioxidant peptide obtained from tuna backbone protein by enzymatic hydrolysis. *Process Biochem.*, 42:840-6.
- Jemil I., Jridia M., Nasri R., Ktaria N., Ben Slama R., Mehrib M., Hajjia M., Nasri M., 2014.** Functional, antioxidant and antibacterial properties of protein hydrolysates prepared from fish meat fermented by *Bacillus subtilis* A26. *Process Biochemistry*, 49 : 963–972.
- Jeon Y.J., Byun H.G., Kim S.K., 1999.** Improvement of functional properties of cod frame protein hydrolysates using ultrafiltration membranes, *Process Biochem*, 35: 471-478.
- Jeon Y.J., Kamil J., Shahidi F., 2002.** Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and Atlantic cod., *J. Agr. Food Chem.*, 50 : 5167-5178.

**Johnson, H.M., 2002.** Perspectives de marché dans le secteur international du poisson et des fruits de mer. Autres produits/usages et questions de salubrité alimentaire. Bureau du Commissaire au développement de l'aquaculture.

**Jridi M., Abdelhedi O., Souissi N., Kammoun M., Nasri M., & Ayadi M.A., 2015.** Improvement of the physicochemical, textural and sensory properties of meat sausage by edible cuttlefish gelatin addition. *Food Bioscience*, 12 : 67-72.

**Judith D.V. & Voet G., 2005.** Livre de Biochimie; traduction de la 3e édition américaine par Guy Rousseau et Lionel Domenjoud, Édition Bruxelles : De Boeck.

**Jung W.K. and Kim S.K., 2007.** Calcium-binding peptide derived from pepsinolytic hydrolysates of hoki (*Johnius belengerii*) frame. *Eur. Food Res. Technol.*, 224: 763-767.

**Kasaai M. R., Arul J., Chin S.L., Charlet G., 1999.** The use of intense femtosecond laser pulses for the fragmentation of chitosan. *J.Photochem. Photobiol., A:Chem.*,120: 201-205.

**Kasaai M.R., Arul J. & Charlet C., 2000.** Intrinsic viscosity-molecular weight relationship for chitosan. *J. Polym. Sci. Pt B-Polym Phys* 38(19): 2591-2598.

**Kechaou E.S., Dumay J., Donnay-Moreno C., Jaouen P., Gouygou J-P., Bergé J-P., Ben Amar R., 2009.** Enzymatic hydrolysis of cuttlefish (*Sepia officinalis*) and sardine (*Sardina pilchardus*) viscera using commercial proteases: Effects on lipid distribution and amino acid composition. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 107: 158-164.

**Kechaou E.S., Dumay J., Donnay-Moreno C., Jaouen P., Gouygou J.P., Bergé J.P., Kim K.W. & Thomas R.L., 2007.** Antioxidative activity of chitosans with varying molecular weights. *Food Chemistry*, 101: 308-313. System., *Journal of Food Lipids*, 9 : 57-64.

**Kim I.Y., Lee I.K., Lee T.S. & Park W.H., 2003.** Synthesis of chito oligosaccharide derivative with quaternary ammonium group and its antimicrobial activity against *Streptococcus mutans*. *International Journal of Biological Macromolecules* (32) : 23-27.

**Kim S. K., Rajapakse N., 2005.** Enzymatic production and biological activities of chitosan oligosaccharides (COS). a review. *Carbohydr. Polym.*, 62: 357-368.

**Kim S.K., Rajapakse N., Shahidi F., 2008.** Production of bioactive chitosan oligosaccharides and their potential use as nutraceuticals. In: C.S. Barrow, F (Ed.) Marine nutraceuticals and functional foods. *Nutraceutical Science and Technology*, New York, pp. 183- 196.

**Klomklao S., Benjakul S., & Kishimura H., 2013.** Functional properties and antioxidative activity of protein hydrolysates from toothed ponyfish muscle treated with viscera extract from hybrid catfish. *International Journal of Food Science and Technology*, 48, 1483-1489.

**Klomklao S., Kishimura H., Benjakul S., 2013.** Use of viscera extract from hybrid catfish (*Clarias macrocephalus* × *Clarias gariepinus*) for the production of protein hydrolysates from toothed ponyfish (*Gazza minuta*) muscle. *Food Chemistry*, 136: 1006–1012.

**Klouj A., 2012.** Potentialités des emballages bioactifs pour assurer la sécurité des aliments. The promise of bioactive packaging to ensure food safety. Biomolécule Engineering Laboratory. 21p.

**Kobelke D., 1990.** By-products from crustacean wastes-chitin production. *Food Australia*, 42: 18-19.

**Kong M., Chen X.G., Xing K. & Park H.J., 2010.** Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review., *International Journal of Food Microbiology*, 144 : 51-63.

**Kotzamanis Y.P., Gisbert E., Gatesoupe F.J., Infante J.Z., Cahu C., 2007.** Effects of different dietary levels of fish protein hydrolysates on growth, digestive enzymes, gut microbiota, and resistance to *Vibrio anguillarum* in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Comp. Biochem. Phys. A: Mol. Integr. Physiol.*, 147(1): 205-214.

**Kristinsson H.G., Rasco B.A., 2000.** Fish protein hydrolysates: production, biochemical and functional properties, *Crit Rev Food Sci Nutr.*, 40: 43-81

**Kristinsson H.G., Rasco B.A., 2000a.** Kinetics of the hydrolysis of Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle proteins by alkaline proteases and a visceral serine protease mixture. *Process Biochem.*, 36: 131-9.

**Kristinsson H.G., Rasco B.A., 2000b.** Biochemical and functional properties of Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle proteins hydrolyzed with various alkaline proteases. *Agri. Food Chem.*, 48: 657-66.

**Ktari N., Mnafigui K., Nasri R., Hamden K., Bkhairia I., Hadj A.B., ... Nasri M., 2013.** Hypoglycemic and hypolipidemic effects of protein hydrolysates from zebra blenny (*Salaria basilisca*) in alloxan-induced diabetic rats. *Food & Function*, 4: 1691-1699.

**Kumar M.N.V Ravi., 2000.** A Review of Chitin and Chitosan Applications, *Reactive and Functional Polymers* 46(1):1-27. DOI: 10.1016/S1381-5148(00)00038-9.

**Kumari S., Rath P.K., 2012.** Extraction and characterization of chitin and chitosan from (*Labeo rohita*) fish scales. *Proc. Mater. Sci.*, 6: 482-489

**Kurita K., 2006.** Chitin and chitosan: functional biopolymers from marine crustaceans. *Biotechnol.*, 8: 203-226.

**Laining A., Rachmansyah Ahmad T., Williams K., 2003.** Apparent digestibility of selected feed ingredients for humpback grouper, *Cromileptes altivelis*. *Aquaculture*, 218, 529-538.

**Larpent J.P., Larpent-Gourgaud M., 1997.** Mémento technique de microbiologie. *Ed. 3e édition, Lavoisier-Tec &Doc*, Paris, 8 : 217-240.

**Lassoued I., Mora L., Nasri R., Aydi M., Toldrá F., Aristoy M. C., Nasri, M., 2015.** Characterization, antioxidative and ACE inhibitory properties of hydrolysates obtained from thornback ray (*Raja clavata*) muscle. *Journal of Proteomics*, 128:458-68. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2015.05.007>.

**Lazard J., 1990.** Transferts de poissons et développement de la production piscicole. *Rev. Hydrobiol. Trop.*, 23(3) : 25 1-256.

**Lazard J., 2007.** Aquaculture et espèces introduites : exemple de la domestication *ex situ* des tilapia. *Cahiers agriculture*, 16 (2): 123-124

**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. Thèse de doctorat. Université de Nantes, pp.222.

**Lee S., Choi H., Suh S., Doo I.S., Oh K.Y., Choi E.J., Schroeder T.A.T., Low P.S., Lee Y., 1999.** Oligogalacturonic acid and chitosan reduce stomatal aperture by inducing the evolution of reactive oxygen species from guard cells of tomato and *Commelina communis*. *Plant Physiol.*, 121(1): 147-52.

**Lee S.H., Qian Z.J., & Kim S.K., 2010.** A novel angiotensin I converting enzyme inhibitory peptide from tuna frame protein hydrolysate and its antihypertensive effect in spontaneously hypertensive rats. *Food Chemistry*, 118: 96-102.

**Lemondé M., Biasotto F. & Serge A. 2011.** Biopolymères : Chitine et chitosane, un monde à part., *L'ordre des chimistes du Québec* 26 (3) : 581-592.

**Li P., Wang X., Hardy R.W., Gatlin D.M., 2004.** Nutritional value of fisheries by-catch and by-product meals in the diet of red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Aquaculture*, 236, 485-496.

**Li, J., Du Y.M., Yang J.H., Feng T., Li A.H., & Chen P., 2005.** Preparation and characterisation of low molecular weight chitosan and chito-oligomers by a commercial enzyme., *Polym. Degrad. Stabil.*, 87(3):441-448.

**Lian P.Z., Lee C.M., Park E., 2005.** Characterization of squid-processing by-product hydrolysates and its potential as aquaculture feed ingredient. *J. Agric. Food Chem.*, 53: 5587-5592.

**Liaset B., Julshamn K., Espe M., 2003.** Chemical composition and theoretical nutritional evaluation of the produced fractions from enzymatic hydrolysis of salmon frames with Protamex. *Process Biochem.*, 38: 1747-1759.

**Liaset B., Lied E., Espe M., 2000.** Enzymatic hydrolysis of by-products from the fish-filleting industry; chemical characterisation and nutritional evaluation. *J. Sci Food Agric.*, 80: 581-589.

**Liceaga-Gesualdo A.M., Li-Chan E.C.Y., 1999.** Functional properties of fish protein hydrolysate from herring (*Clupea harengus*). *J Food Sci.*, 64(6): 1000-1004.

**Little D.C., Bhujel R.C., Pham T.A., 2003.** Advanced nursing of mixed-sex and mono-sex tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry, and its impact on subsequent growth in fertilized ponds, *Aquaculture*, 221: 265-276.

**Lopes-Lutz D., Alviano S.D., Alviano C.S., Kolodziejczyk P.P., 2008.** Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. *Phytochemistry*, 69 :1732-1738.

**Mackie I.M., 1982.** General review of fish protein hydrolysate, *Anim. Feed Sci Technol.*, 7: 113-124.

**Maghami G.G., Roberts G. A. F., 1988.** Evaluation of the viscometric constants for chitosan. *Die Makro molekulare Chemie*, 189(1): 195-200.

**Mair G.C., 2003.** Chromosome-set manipulation in tilapia — techniques, problems and prospects, *Aquaculture*, 111 (1-4) : 227-244. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(93\)90040-6](https://doi.org/10.1016/0044-8486(93)90040-6).

**Majtána J., Bíliková K., Markoviča O., Grófb J., Koganc G., Šimútha J., 2007.** Isolation and characterization of chitin from bumblebee (*Bombus terrestris*) *International Journal of Biological Macromolecules*, 40 (3) : 237-241. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2006.07.010>

- Margaret I., Halpin-Dohnalek., Elmer H. M., 1989.** Staphylococcus aureus: Production of Extracellular Compounds and Behavior in Foods - A Review. *Journal of Food Protection*, 52 (4): 267-282. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-52.4.267>.
- Maruthiah T., Somanath B., Immanuel G., Palavesam A., 2015.** Deproteinization potential and antioxidant property of haloalkalophilic organic solvent tolerant protease from marine *Bacillus sp.* APCMST-RS3 using marine shell wastes. *Biotechnol. Rep.*, 8: 124-132.
- Mather F.J., Jones A.C., 1995.** Historical document : life history and fisheries of Atlantic bluefin tuna. In : NOAA ed, Technical memorandum NMFS-SEFSC, Miami, 165p.
- Mathur N.K., Narang C.K., 1990.** Chitin and chitosan, versatile polysaccharides from marine animals. *Journal of chemical education*, 67(11) : 938.
- Mati-Baouche N., 2012.** 1ers essais de caractérisation du chitosane comme matrice pour la conception de panneaux isolants. Projet DEMETHER.
- Mattoso L.H. C., 2009.** Improved barrier and mechanical properties of novel hydroxypropyl methylcellulose edible films with chitosan/tripolyphosphate nanoparticles., *J. Food Eng.*, 92(4): 448-453.
- Médale F., Kaushik S., 2009.** Les sources protéiques dans les aliments pour les poissons d'élevage. *Cahier Agriculture*, 18 : 2-3.
- Mélard C., 1986.** Les bases biologiques de l'élevage intensif du Tilapia du Nil. *Cah. Ethol. Appl.*, 6 (3), 224 pp.
- Melard Ch. Et Philippart J.C., 1981.** La production de tilapia de consommation dans les rejets industriels d'eau chaude en Belgique. Cahiers d'Ethologie appliquée, collection Enquêtes et dossiers: 2, vol. 1, suppl. 2, Institut de Zoologie de l'Univ. de Liège, 122 p.
- Meyer P., Prodromou C., Liao C., Hu B., Roe S.M., Vaughan C.K., Vlastic I., Panaretou B., Piper P.W., Pearl L.H.P., 2004.** Structural basis for recruitment of the ATPase activator Aha1 to the Hsp90 chaperone machinery. *EMBO. J.*, 23(6):1402-1410.
- Mickaël., 2016.** Comment réaliser votre farine de poisson ? , Pêcher Malin.
- Mokrani N., 2012.** Préparation et étude du comportement de membranes biopolymères alginate de sodium/chitosane. Mémoire de Magister. Université M'hamed Bougara-Boumerdes. Algérie, pp 88.
- Molmeret M., Jones S., Santic M., Habyarimana F., Esteban M.T.G., Abu Kwaik Y., 2010.** Temporal and spatial trigger of post-exponential virulence-associated regulatory cascades by *Legionella pneumophila* after bacterial escape into the host cell cytosol, *Environ. Microbiol.*, 12(3): 704-715.
- Morganti P., Morganti G., 2008.** Chitin nanofibrils for advanced cosmeceuticals. *Clinics in Dermatology*, 26: 334-340.
- Moriarty C.D., Et Moriarty D.J.W., 1973.** Quantitative estimation of the daily ingestion of phytoplankton by *Tilapia nilotica* and *Haplochromis nigripinnis* in Lake George, Uganda. *J. Zool. Lond.*, 171 (1), 15-23.
- Moriarty D.J., & Moriarty CM., 1973.** The assimilation of carbon from phytoplankton by two herbivorous fishes : *Tilapia nilotica* and *Haplochromis nigripinnis*. *J. Zool.*, 171: 41-45.

**Morimoto M., Saimoto H. & Yoshihiro S., 2002.** Control of functions of chitin and chitosan by chemical modification., *Trends in Glycosc. and Glycotechno* 14 (78) : 205-222.

**Morimura S., Nagata H., Uemura Y., Fahmi A., Shigematsu T., Kida K. 2002.** Development of an effective process for utilization of collagen from livestock and fish waste. *Process Biochem.*, 37: 1403-1412.

**Moure A., Gullón P., Domínguez H. and Parajó J.C., 2006.** Advances in the Manufacture, Purification and Applications of Xylo-Oligosaccharides as Food Additives and Nutraceuticals. *Process Biochemistry*, 41:1913-1923. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2006.05.011>.

**Mrunal R.T., 2004.** Synthesis and antibacterial assessment of water- soluble hydrophobic chitosan derivatives bearing quaternary ammonium functionality. Doctor of philosophy. Louisiana State University.

**Musyl M.K., Brill R.W., Boggs C.H., Curran D.S., Kazama T.K. And Seki M.P., 2003.** Vertical movements of bigeye tuna (*Thunnus obesus*) associated with islands, buoys, and seamounts near the main Hawaiian Islands from archival tagging data. *Fisheries Oceanography*, 12: 152-169.

**Muyonga J.H., Cole C.G.B., et Duodu K.G., 2004.** Extraction and physico-chemical characterisation of Nile perch (*Lates niloticus*) skin and bone gelatin. *Food Hydrocolloid.*, 18(4):581-592.

**Muzzarelli R.A.A., 1983.** Chitin and its derivatives. New Trends of Applied Research., *Carbohydrate Polymers*, 3: 53-101.

**Muzzarelli C., Muzzarelli R.A.A., 2003.** Chitin related food science today (and two centuries ago). *Agro Food Ind Hi-Tech.*, 14(5): 39-42.

**Muzzarelli R., 1993.** Biochemical significance of exogenous chitins and chitosans in animals and patients. *Carbohydrate Poly.*, 20: 7-16.

**Nasri R., Jridi M., Lassoued I., Jemil I., Ben Slama-Ben Salem R., Nasri M., Karra-Châabouni M., 2014.** The influence of the extent of enzymatic hydrolysis on antioxidative properties and ACE-inhibitory activities of protein hydrolysates from goby (*Zosterisessor ophiocephalus*) muscle. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 173: 1121-1134.

**Ngo D.N., Lee S.H., Kim M.M., Kim S.K., 2009.** Production of chitin oligosaccharides with different molecular weights and their antioxidant effect in RAW 264.7 cells. *Journal of Functional Foods*, 1: 188-198.

**No H.K., Hur E.Y., 1998.** Control of Foam Formation by Antifoam during Demineralization of Crustacean Shell in Préparation of Chitin., *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46 (9) : 3844-3846.

**No H.K., Lee S.H., Park N.Y., & Meyers S.P., 2003.** Comparison of physicochemical, binding, and antibacterial properties of chitosans prepared without and with deproteinization process., *J. Agric. Food Chem.*, 51(26):7659-7663.

**No H.K., Meyers S.P., 1995.** Preparation and characterization of chitin and chitosan: a review. *J. Aquatic Food Prod. Tech.*, 4: 27-52.

**No H.K., Meyers S.P., Lee K.S., 1989.** Isolation and characterization of chitin from crawfish shell waste. *J. Agric. Food Chem.*, 37(3): 575–579.

**No H.K., Park N.Y., Lee S.H., Meyers S.P., 2002.** Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights., *International Journal of Food Microbiology*, (74) : 65-72.

**O****duguwa O.O.F., Fanimu A.O., Olayemi V.O., Oteri, N., 2004.** The feeding value of sun-dried shrimp waste-meal base diet for starter and finisher broilers. *Archivos de Zootecnia*, 53: 87-90.

**Ogawa M., Portier R.J., Moody M.W., Bell J., Schexnayder M.A., Losso J.N., 2004.** Biochemical properties of bone and scale collagens isolated from the subtropical fish black drum (*Pogonia cromis*) and sheepshead seabream (*Archosargum probatocephalus*). *Food Chem.*, 88: 495-501.

**Onishi H., & Machida Y., 1999.** Biodegradation and distribution of water-soluble chitosan in mice., *Biomaterials*, 20 : 175-182.

**Onsøye E., Skaugrud O. J., 1990.** Metal recovery using chitosan. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 49(4):395-404. DOI: 10.1002/jctb.280490.

**Orachunwong C., Thammasart S., and Lohawatanakul C., 2001.** Recent developments in *tilapia feeds*, p. 113-122. In Subasinghe S. and Tarlochan S., 2001. *Tilapia: production, marketing and technological developments*. Proceedings of the Tilapia 2001. *International Technical and Trade Conference on Tilapia*, 28-30 May 2001, Kuala Lumpur, Malaysia.

**P****ascal G., 1979.** Les antioxygènes alimentaires., *Cahier de Nutrition et de Diététique*, 14 : 271-290.

**Pastoriza L., Sampedro G., Cabo M.L., Herrera J.J.R., Bernardez M., 2003.** Solubilisation of proteins from rayfish residues by endogenous and commercial enzymes. *J Sci Food Agric.*,84: 83-8.

**Peh K. S.H., Sodhi N.S., De Jong J., Sekercioglu C.H., Yap C.A.M., & Lim S.L.H., 2006.** Conservation value of degraded habitats for forest birds in southern Peninsular Malaysia., *Diversity and Distributions*, 12 : 572-581.

**Peralta E.M., Hatate H., Kawabe D., Kuwahara R., Wakamatsu S., Yuki T., Murata H., 2008.** Improving antioxidant activity and nutritional components of Philippine salt-fermented shrimp paste through prolonged fermentation. *Food Chemistry*, 111, 72-77.

**Percot A., Viton C., Domard A., 2002.** Optimization of Chitin Extraction from Shrimp Shells, *Biomacromolecules*, 4 (1) : 12-18.

**Perez-Galvez R., 2009.** Le compactage : une solution pour un meilleur management des bioressources marines. Applications aux rejets et so-projets de poisson. Thèse de doctorat : Ifremer et Université de Nantes. 311p. <http://archiver.ifremer.fr/doc/2009/these-7390.pdf>.

**Pérez-Mateos M., 2007.** Les applications alimentaires du chitosane et dérivés. Instituto del Frío (CSIC), José Antonio Novais, 10, E28040 Madrid, Spain.

**Pernet-Poil-Chevrier A., 2009.** Nouvelle méthode de préparation de chitoooligosaccharides possédant une structure et une architecture contrôlées. Thèse de doctorat, L'Université De Lyon. 221pp

**Péron G., Mittaine J.F., & Le-Gallic B., 2010.** Where do fishmeal and fish oil products come from? An analysis of the conversion ratios in the global fishmeal industry. *Marine Policy*, 34 : 815-820.

**Perry C.C., Weatherly M., Beale T., Randriamahefa A., 2009.** Atomic force microscopy study of the antimicrobial activity of aqueous garlic versus ampicillin against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus.*, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 89 :958-964.

**Petransxiene P., Lapied L., 1981.** Qualité bactériologique du lait et des produits laitiers : *Analyse et tests. 2ème édition, Tech. et Doc., Lavoisier, Paris*, pp: 44-81.

**Picot L., Bordenave S., Didelot S., Fruitier-Arnaudin I., Sannier F., Thorkelsson G., Bergé J.P., Guérard F., Chabeaud A., Picot J.M., 2006.** Antiproliferative activity of fish protein hydrolysates on human breast cancer cell lines. *Process Biochemistry*, 41: 1217-1222.

**Pillay T.V.R., 1990.** Aquaculture: Principle and Practices. Fishing Book News, London, 575 pp.

**Plascencia-Jatomea M., Olvera-Novoa M.A., Arredondo-Figueroa J.L., Hal G.M., Shirai K., 2002.** Feasibility of fishmeal replacement by shrimp head silage protein hydrolysate in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L) diets. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82: 753-759.

**Po-Jung C., Cheng-Chun C., 2006.** Antifungal activity of chitosan and its application to control post-harvest quality and fungal rotting of Tankan citrus fruit (*Citrus tankan* Hayata). *Journal of the science of food and Agriculture*, 86(12): 1964-1969. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2570>.

**Prabu K., Natarajan E., 2012.** In Vitro Antimicrobial and Antioxidant Activity of Chitosan Isolated from *Podophthalmus Vigil.* *J. App. Pharm. Sci.*, 2(9): 075-082. DOI: 10.7324/JAPS.2012.2916

**Pradeep P.J., Sriyaya T.C., Hassan A., Chatterji A.K., Rajeev R., Boonsirm W., & Andrew J., 2013.** Growth Performance of Triploid Red Tilapia Reared Under Laboratory Conditions. *Journal of Applied Aquaculture*, 25(2): 176-189, DOI: 10.1080/10454438.2013.793131.

**Pradeep P.J., Sriyaya T.C., Papini A., and Anil C.H., 2012.** Effects of triploidy induction on growth and masculinization of red tilapia (*Oreochromis mossambicus* [Peters, 1852] X *Oreochromis niloticus* [Linnaeus, 1758]). *Aquaculture*, 344/349:181–187.

**Prieto P., Pineda M., Aguilar M., 1999.** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269: 337-341.

**Prieto P., Pineda M., Aguilar M., 1999.** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269: 337-341.

**Qin Y., Zhu C., Chen J., Chen Y., & Zhang C., 2009.** The absorption and release of silver and zinc ions by chitosan fibers., *J. Appl. Polym. Sci.*, 101: 766-71.

**Rabea E.I., Badawy M.E., Stevens C.V., Smaghe G., & Steurbaut W., 2003.** Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action., *Biomacromol*, 4 : 1457-1465.

**Raghunath M.R., 1993.** Enzymatic protein hydrolysate from tuna cannig wastes-standarisation of hydrolysis parameters. *Fish Technology Society*, 30: 40-45.

- Rakocy J.E., 1989.** Hydroponic lettuce production in a recirculating fish culture system. University of the Virgin Islands, Agricultural Experiment Station, *Island Perspectives*, 3:4-10.
- Randriamahatody Z., 2011.** Valorisation biotechnologique des co-produits de crevette : utilisation de la proteolyse enzymatique pour des applications avicoles à Madagascar. PhD Thesis, Université d'Antananarivo. <http://archimer.ifremer.fr/doc/00043/15456/>.
- Randriamahatodya Z., Syllaa K.S.B., Nguyena H.T.M., Donnay-Morenoa C., Rao M.S., & Stevens W.F., 2005.** Chitin production by *Lactobacillus* fermentation of shrimp biowaste in a drum reactor and its chemical conversion to chitosan., *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* (80) : 1080-1087.
- Rao M.S., Chander R., & Sharma A., 2008.** Synergistic effect of chitooligosaccharides and lysozyme for meat preservation., *LWT-Food Sci. Technol.*, 41 : 1995-2001.
- Rao M.S., Munoz J., Stevens W.F., 2000.** Critical factors in chitin production by fermentation of shrimp biowaste. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 54 : 808-813.
- Rao Y., Pang P., Ruan W., Gunning D., Zipursky S.L. 2000.** Brakeless is required for photoreceptor growth-cone targeting in Drosophila. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 97(11): 5966-5971.
- Rappaport A., Sarig S., & Marek M., 1976.** Results of tests of various aeration Systems on the oxygen regime in the Genosar experimental ponds and growth of fish there in 1975. *Bamidgeh*, 28 (3): 35-49.
- Rasmussen R.S.M., Morrissey T., 2008.** Chitin and chitosan. In: C.S. Barrow, F. (Ed.) Marine nutraceuticals and functional foods. *Nutraceutical Science and Technology*, New York, pp. 155- 182.
- Ravallec-Plé R., Gilmartin L., Wormhoudt A.V., Gal Y.L., 2000.** Influence of the hydrolysis process on the biological activities of protein hydrolysates from cod (*Gadus morhua*) muscle. *J Sci Food Agric.*, 80: 1-5.
- Ravi-Kumar M.N.V., 2000.** A review of chitin and chitosan applications. *React. Funct. Polym.*, 46 (1): 1-27.
- Razanamparanyc L., Bourgougnonb N., Bergé J.P., 2011.** Proteolysis of shrimp by-products (*Peaneus monodon*) from Madagascar Proteólisis de derivados de langostino (*Peaneus monodon*) de Madagascar. *CyTA - Journal of Food*, 9(3): 220-228. <http://dx.doi.org/10.1080/19476337.2010.518250>
- Rebeca B., Pena-Vera M.T., Diaz-Castaneda M., 1991.** Production of Fish Protein Hydrolysates with Bacterial Protease; Yield and Nutritional Value. *Journal of food Science*, 56(2): 309-314.
- Refstie S., Olli J.J., Standal H., 2004.** Feed intake, growth, and protein utilisation by post-smolt atlantic salmon (*Salmo salar* ) in response to graded levels of fish protein hydrolysate in the diet. *Aquaculture*, 239(1-4): 331-349.
- Refstie S., Olli J.J., Standal H., 2004.** Feed intake, growth, and protein utilisation by post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*) in response to graded levels of fish protein hydrolysate in the diet. *Aquaculture*, 239 (1-4) : 331-349. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.06.015>.
- Roberts G.A.F., 1992.** Chitin chemistry. London: Macmillan Press Ltd, 1992. In: Chitin Chemistry. Roberts GAF editor.

**Rodriguez M.S., Gwizdek C., Haguenaer-Tsapis R., Dargemont C. 2003.** The HECT ubiquitin ligase Rsp5p is required for proper nuclear export of mRNA in *Saccharomyces cerevisiae*. *Traffic*, 4(8): 566-75.

**Rosenfeld D.J., Gernat A.G., Marcano J.D., Murillo J.G., Lopez G.H., Flores J.A. 1997.** The effect of using different levels of shrimp meal in broiler diets. *Poult. Sci.*, 76 (4): 581-587

**Rosenfeld D.J., Gernat A.G., Marcano J.D., Murillo J.G., Lopez G.H., Flores J.A., 1997.** The effect of using different levels of shrimp meal in broiler diets. *Poult. Sci.*, 76 (4): 581-587.

**Roy P., Durand P., 1997.** Les enzymes dans la fabrication d'aliments à base de produits de la mer. In Larreta-Garde (Eds). *Enzymes en agroalimentaire. Tec et Doc, Lavoisier*, Paris: 95-120.

**Royer F., Fromentin J.M., And Gaspar P., 2004.** The association between bluefin tuna schools and oceanic features in the Western Mediterranean Sea. *Marine Ecology Progress Series*, 269: 249-263.

**Ruttanapornvareesakul Y., Somjit K., Otsuka A., Hara K., Osatomi K., Osako K., Kongpun O., Nozaki Y., 2006.** Cryoprotective effects of shrimp head protein hydrolysate on gel forming ability and protein denaturation of lizardfish surimi during frozen storage. *Fisheries Science*, 8: 66-72.

**Ruttanapornvareesakul, Y., Ikeda M., Hara K., Osako K., Orawan K., & Nozaki Y., 2005.** Effect of shrimp head protein hydrolysates on the state of water and denaturation of fish myofibrils during dehydration. *Fisheries Science*, 71, 220-228.

**Sachindra N.M., Bhaskar N., 2008.** In vitro antioxidant activity of liquor from fermented shrimp biowaste. *Bioresource Technology*, 99: 9013-9016.

**Sadowska M., Kolodziejaska I., et Niecikowska C., 2003.** Isolation of collagen from the skins of Baltic cod (*Gadus morhua*). *Food Chem.*, 81: 257-62.

**Sagoo S.K., Board R., Roller S., 2002.** Chitosan potentiates the antimicrobial action of sodium benzoate on spoilage yeasts. *Microbiology*, 34: 168-172

**Sampedro G., López-Benito M., Pastoriza L., 1986.** Cabezas y vísceras de túnidos: Su aprovechamiento para alimentación animal. Informe técnico nº 137 del Instituto de Investigaciones Pesqueras. Barcelona.

**Sarbon N.M., Sandanamamy S., Kamaruzaman S.F.S., Ahmad F., 2015.** Chitosan extracted from mud crab (*Scylla olivacea*) shells: Physicochemical and antioxidant properties. *Journal of Food Science and Technology*, 52: 4266-4275.

**Sardà R., Diedrich A., Tintoré J., Pablo-Lozoya J., Cormier R., Hardy M., and Ouellette M., 2010.** Decision Making (DEMA) tool and demonstration. KnowSeas. Deliverable 6.2 Development of Risk Assessment. European Community's Seventh Framework Programme [FP7/2007-2013] under grant agreement number 226675.

**Sathivel S., Prinyawiwatkul W., Negulescu I. I., King J. M., & Basnayake B. F. A., 2003.** Thermal degradation of fatty acids and catfish and menhaden oils at different purification steps. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 80(11), 1131-1134. <http://dx.doi.org/10.1007/s11746-003-0831-9>.

**Sathivel S., Smiley S., Prinyawiwatkul W., Bechtel P.J., 2005.** Functional and nutritional properties of red salmon (*Oncorhynchus nerka*) enzymatic hydrolysates. *Food Sci.*, 70(6): 401-6.

**Sauvant D., Perez J.M., Tran G., 2004.** Tables INRA-AFZ de composition et de valeur nutritive des matières premières destinées aux animaux d'élevage: 2ème édition. ISBN 2738011586, 306 p. INRA Editions Versailles.

**Savoie A., Le François N.R., Cahu C., Blier P.U., Andreassen I., 2006.** Do protein hydrolysates improve survival and growth of newly-hatched spotted wolffish (*Anarhichas minor*), a non-metamorphic aquaculture fish species ? *Aquaculture*, 261(2):782-788.

**Savoie A., Le-Francois N.R., Cahu C., Blier P.U., et Andreassen I., 2006.** Do protein hydrolysates improve survival and growth of newlyhatched spotted wolffish (*Anarhichas minor*), a non-metamorphic aquaculture fish species?. *Aquaculture*, 261(2):782-788.

**Schippe G., 2008.** Is the use of fishmeal and fish oil in aquaculture diets sustainable ? Department of Primary Industry - Fisheries and Mines. Northern Territory Government. Technote 124, 15p.

**Serejo C.S., Young P.S., Cardoso I.C., Tavares C., Rodrigues C., & Almeida T.C., 2007.** Abundancia, diversidade e zonação dos crustáceos no taude da costa central do Brasil (11°-22°S) coletados pelo Programa REVIZEE/ Score Central: prospecção pesqueira. In: P.A.S. Costa, G. Olavo & A.S. Martins (eds.). Biodiversidade da fauna marinha profunda na costa central brasileira. Museu Nacional, Rio de Janeiro, pp. 133-162.

**Shahidi F., 2002.** Nutraceuticals and bioactives from seafood byproducts. In: *Advances in seafood byproducts, 2002 Conference proceedings*. Edited by Bechtel PJ. University of Alaska, Fairbanks: Alaska Sea Grant Program, 247-263

**Shahidi F., Arachchi J.K.V., Jeon Y.J., 1999.** Food applications of chitin and chitosans. *Trends Food Sci. Tech.*, 10: 37-51.

**Shahidi F., Han X.Q., Synowiecki J., 1995.** Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). *Food Chemistry*, 53, 285- 293.

**Siddiqui A.Q., Al-Harbi A.H., 1995.** Evaluation of three species of tilapia, red tilapia and a hybrid tilapia as culture species in Saudi Arabia. *Aquaculture*, 138: 145-157.

**Siddiqui A.Q., Howlander M.S., & Adam A.B., 1989.** Culture of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), at three stocking densities in outdoor concrete tanks using drainage water. *Aquaculture and Fisheries Management*, 20: 49-57.

**Sifa L., Chenhong L., Madan M.D., Gaglac F., Dunham R., 2002.** Cold tolerance of three strains of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, *Aquaculture* 213(1): 123-129 DOI: 10.1016/S0044-8486(02)00068-6.

**Sila A., 2015.** Récupération de biomolécules d'origine aquatique en vue d'une valorisation comme ingrédients fonctionnels dans les domaines alimentaire et pharmaceutique. Thèse de doctorat, Lille 1, France. 258pp.

**Sing Archer K.W., Kamarudin M.S., Wilson J.J. Azirun M.S., 2014.** Evaluation of blowfly (*Chrysomya megacephala*) maggot meal as an effective, sustainable replacement for fishmeal in the diet of farmed juvenile red tilapia (*Oreochromis sp.*). *Pak. Vet. J.*, 34: 288-292.

**Singh E., Saini V.P., and Sharma O.P., 2018.** Sex reversal in red tilapia (*Oreochromis spp*) fry by immersion technique. *International Journal of Fauna and Biological Studies*, 5(1): 34-36.

**Skierka E., Sadowska M., 2007.** The influence of different acids and pepsin on the extractability of collagen from the skin of Baltic cod (*Gadus morhua*). *Food Chemistry*, 105: 1302-1306.

**Skierka E., Sadowska M., 2007.** The influence of different acids and pepsin on the extractability of collagen from the skin of Baltic cod (*Gadus morhua*). *Food Chemistry*, 105: 1302-1306.

**Šližyte R., Daukšas E., Falch E., Storrø I., & Rustad T. 2005.** Characteristics of protein fractions generated from hydrolysed cod (*Gadus morhua*) by-products. *Process Biochemistry*, 40: 2021–2033.

**Slizyte R., Mozuraityte R., Martinez-Alvarez O., Falch E., Fouchereau-Peron M., Rustad T., 2009.** Functional, bioactive and antioxidative properties of hydrolysates obtained from cod (*Gadus morhua*) backbones. *Process Biochemistry*, 44: 668- 677.

**Song Y., Babiker E.E., Usui M., Saito A., & Kato A., 2002.** Emulsifying properties and bactericidal action of chitosan-lysozyme conjugates., *Food Research International*, 35 : 459-466.

**Souissi N., Bougatef A., Triki-Ellouz Y., Nasri., 2007.** Biochemical and functional properties of sardinella (*Sardinella aurita*) by-product hydrolysates. *Food Tech. Biotech*, 45(2): 187-94.

**Soyiri I., Agbogli H., Dongden J. 2003.** A pilot microbial safety of beef sold in Ashiaman market a suburb of Accra. *African journal of food, agriculture nutrition and development*, t 8: 91-103

**Srichanun M., Tantikitti C., Kortner T. M., Krogdahl A. Chotikachinda R., 2014.** Effects of different protein hydrolysate products and levels on growth, survival rate and digestive capacity in asian seabass (*Lates calcarifer* Bloch) larvae. *Aquaculture*, 428-429:195-202.

**Srichanun M., Tantikitti C., Kortner T.M., Krogdahl A., et Chotikachinda R., 2014.** Effects of different protein hydrolysate products and levels on growth, survival rate and digestive capacity in asian seabass (*Lates calcarifer* Bloch) larvae. *Aquaculture*, 428-429:195-202.

**Stickney R., 1986.** Tilapia tolerance of saline water - a review. *Prog. Fisch Cult*, 48(3): 161-167.

**Sudaryono A., Tsvetnenko E., Evans L.H., 1996.** Digestibility studies on fisheries by-product based diets for *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 143: 331-340.

**Sudaryono A., Tsvetnenko E., Evans, L.H., 1996.** Digestibility studies on fisheries by-product based diets for *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 143, 331-340.

**Suprayudi M.A., Faisal B., Setiawati M., 2013.** The growth of red tilapia fed on organic–selenium supplemented diet. *Jurnal Akuakultur Indonesia* 12: 48-53.

**Suresh V., 2003.** Tilapia. 321-345 In J S. Lucas and P. C . Southgate, eds. *Aquaculture: Farming Aquatic Animals and Plants*. Blackwell Publishing, Oxford, UK.

**Suzuki T., Yamane T., Shimizu S., 1986.** *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 24: 370-374. *Technology and Biotechnology*. 49: 395-404.

**T**abak J., Toporikova N., Freeman M.E., Bertram R., 2007. Low dose of dopamine may stimulate prolactin secretion by increasing fast potassium currents. *J. Comput. Neurosci.*, 22(2): 211-222.

**Tagg J.R., Dajani A.S., Wannamaker L.W., 1976.** Bacteriocins of gram-positive bacteria. *Bacteriological reviews*, 40(3): 722-756.

**Tang Y.Q., Yuan J., Ouml-Sapay G., Ouml-Sapay K., Tran D., Miller, C.J., Ouellette A.J., Selsted M.E., 1999.** A Cyclic Antimicrobial Peptide Produced in Primate Leukocytes by the Ligation of Two Truncated-Defensins. *Science*, 286: 498-502.

**Tannenbaum S.R., Ahern M., & Bates R.P., 1970.** Solubilization of fish protein concentrate. I. An alkaline process. *Food Technology*, 24 (5) : 604.

**Tayel A.A., Moussa S., Opwis K., Knittel D., Schollmeyer E., & Nickisch-Hartfiel A., 2010.** Inhibition of microbial pathogens by fungal chitosan., *International Journal of Biological Macromolecules*, 47: 10-14.

**Thiansilakul Y., Benjakul S., & Shahidi F., 2007.** Antioxidative activity of protein hydrolysate from round scad muscle using alcalase and flavourzyme. *Journal of Food Biochemistry*, 31 : 266–287.

**Tibbetts S.M., Milley J.E., Lall S.P., 2006.** Apparent protein and energy digestibility of common and alternative feed ingredients by Atlantic cod, *Gadus morhua* (Linnaeus, 1758). *Aquaculture*, 261, 1314-1327.

**Tolaimate A., Desbrieres J., Rhazi M. & Alagui A., 2003.** Contribution to the preparation of chitins and chitosans with controlled physico-chemical properties, *Polymer*. PISSN 0032-3861. (44): 7939–7952.

**Tomihata K., & Ikada Y., 1997.** *In vitro* and *in vivo* degradation of films of chitin and its deacetylated derivatives., *Biomaterials.*, 18 : 567-575.

**Trewavas E., 1983.** Tilapiine Fishes of the Genera *Sarotherodon Oreochromis* and *Danakilia*. British Museum Nat. Hist., 583p.

**Tsai G.J., Su W.H., Chen H.C., Pan C.L., 2002.** Antimicrobial activity of shrimp chitin and chitosan from different treatments and applications of fish preservation., *Fish. Sci.*, 68 : 170-177.

**Tsai Y.H., Lin C.Y., Chien L.T., Lee T.M., Wei C.I., Hwang D.F., 2006.** Histamine contents of fermented fish products in Taiwan and isolation of histamine-forming bacteria. *Food Chemistry*, 98, 64-70.

**Valdimarsso G., James D., 2001.** *World fisheries utilisation of catches ocean and coastal management*, 44: 919-633.

**Vanden Berghe D.A., Vlietinck A.J., 1991.** In: Dey, P.M., Harborne, J.B. (Eds.), *Methods in Plant Biochemistry: Screening Methods for Antibacterial and Antiviral Agents from Higher Plants*. Academic Press, London, 47-69.

**Varum K. M., Antohonsen M. W., Grasdalen H., & Smidsrod O., 1991.** Determination of the degree of N-acetylation and the distribution of N-acetyl groups in partially N-deacetylated chitins (chitosans) by high-field n.m.L spectroscopy., *Carbohydrate Research*, 211 : 17-23.

**Vieira G.H.F., Martin A.M., Saker-Sampaiao S., Omar S., Goncalves R.C.F., 1995.** Studies on the enzymatic hydrolysis of Brazilian lobster (*Panulirus spp.*) processing wastes. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 69 (1): 61-65. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740690110>.

**Viola S., & Arieli Y., 1983.** Nutrition studies with tilapia Kirchgessner M., Kurzinger H. & Schwarz F.J. (1986) hybrids. II. The effects of oil supplements to practical diets Digestibility of crude nutrients in different feeds and for intensive aquaculture. *Israel Journal of Aquaculture. Bamidgeh* 35: 44:52.

**Vlieg P., Murray T., 1988.** Proximate composition of albacore tuna, *Thunnus alalunga*, from the temperate South Pacific and Tasman Sea. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 22: 491-496.

**Waldeck J., Daum G., Bisping B., Meinhardt F., 2006.** Isolation and molecular characterization of chitinase deficient *Bacillus licheniformis* strains capable of deproteinization of shrimp shell waste to obtain highly viscous chitin. *Appl. Environ. Microbiol.* 72(12): 7879-7885.

**Wang S.L., Lin H.T., Liang T.W., Chen Y.Z., Yen Y.H., Guo .P., 2008.** Reclamation of chitinous materials by bromelain for the preparation of antitumor and antifungal materials. *Bioresource Technology*, 99: 4386- 4393.

**Watanabe Y., Ikeuchi Y., Tamai Y., 1990.** Identification and characterization of a thermolabile antigen (TLAa, enolase) in *Saccharomyces cerevisiae*. *Agric Biol Chem* 54(10):2543-51

**Wilson S.G., Lutcavage M.E., Brill R.W., Genovese M.P., Cooper A.B., And Everly A.W., 2005.** Movements of bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) in the northwestern Atlantic Ocean recorded by pop-up satellite archival tags. *Marine Biology*, 146:409-423.

**Wiriyanphan C., Xiao H., Decker E.A., & Yongsawatdigul J., 2015.** Chemical and cellular antioxidative properties of threadfin bream (*Nemipterus* spp.) surimi byproduct hydrolysates fractionated by ultrafiltration. *Food Chemistry*, 167, 7-15. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.077>. PMID:25148952.

**Wu H.C., Chen H.M., Shiau C.Y., 2003.** Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*). *Food Research International*, 36: 949-957.

**Yamaguchi T., Takamura H., Matoba T., Terao T., 1989.** HPLC Method for Evaluation of the Free Radical-scavenging Activity of Foods by Using 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*. 62(6):1201-4. DOI: 10.1271/bbb.62.1201.

**Yang B.Y., Montgomery R., 2000.** Degree of acetylation of heteropolysaccharides. *Carbohydr.Res.*, 323(1-4):156-162.

**Yashouv A., Chervinski J., 1960.** Evaluation of various food items in the diet of *T. nilitica*. *Bamidgeh*, 12:71-78.

**Yen M.T., Tseng Y.H., Li R.C., Mau J.L., 2007.** Antioxidant properties of fungal chitosan from *shiitake stipes*. *LWT-Food Sci. Technol.*, 4: 255-261.

**Yen M.T., Yang J.H., Mau J.L., 2009.** Physicochemical characterization of chitin and chitosan from crab shells. *Carbohydr. Polym.*,75: 15-21.

**Ylitalo R., Lehtinen S., Wuolijoki E., Ylitalo P., & Lehtimäki T., 2002.** Cholesterol-lowering properties and safety of chitosan., *Arzneimittel forschung*, 52(1):1-7.

**Youcefi F., Riazi A., 2012.** Extraction, Physicochemical Characterization and *in Vitro* Antioxidative Potential of Chitosan in Shrimp Shell Waste from Beni Saf Sea, Algeria., *International Journal of Science and Research (IJSR)*, 3(7): 955-959.

**Young D.K., No H.K., Kim D.S. & Prinyawiwatkul W., 2007.** Physical characteristics of decolorized chitosan as affected by sun drying during chitosan preparation. *Carbohydr. Polymers* (69): 707-712.

**Zemmouri H., 2008.** Utilisation du chitosane comme agent flocculant dans le traitement des eaux. Mémoire de Magister, Laboratoire de Biotechnologie Environnementale et Génie des procédés, Ecole Nationale polytechnique, Alger.

**Zhang L., Wang S., Chen W., Hu B., Ullah S., Zhang Q., Le Y., Chen B., Yang P., Bian X., Yi L., Chen Q., Lin L., Gao C., Hu J., 2014.** Fine structure of zebrafish (*Danio rerio*) spermatozoa. *Pak. Vet. J.*, 34:518-521.

**Zheng L.Y., & Zhu J.F., 2003.** Study on antimicrobial activity of chitosan with different molecular weights., *Carbohydr Polymer*, 54 : 527-530.

**Zhu L.J., Chen J., Tang X., Xiong Y.L., 2008.** Reducing, radical scavenging and chelation properties of *in vitro* digests of Alcalase-treated zein hydrolysate. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 56: 2714-2721.

**Zonneveld N., Fadholi R., 1991.** Feed intake and growth of red tilapia at different stocking densities in ponds in Indonesia. *Aquaculture*, 99: 83-94.

# **ANNEXES**

## Annexes I

### Publications :

- Valorization of the by-products of bluefin tuna *Thunnus thynnus* (Linnaeus, 1758) of the Algerian West Coast (Mostaganem). *Microbiology Advances in Bioresearch* Vol 9(5) 2018.

### Communications scientifiques :

- Biochemical and microbiological characteristics of chitin and chitosan extracted from the co-product of the red shrimp *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) of the western Algerian basin. International Days of Biotechnology (JIB2016), from 18 to 22 December 2016, Sousse, Tunisia.

- Valorisation des coproduits du thon rouge *Thunnus thynnus* (Linné, 1758) et de la crevette rouge *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) de la côte ouest algérienne (Mostaganem) : Utilisation en microbiologie. Journées scientifiques de la faculté SNV, Mostaganem, Algérie (2018).

- Contribution à la valorisation des coproduits de la crevette *Aristeus antennatus* (Risso, 1816), de la région de Mostaganem. Journées scientifiques de la faculté SNV, Mostaganem, Algérie (2016).

## Annexes II

Tableau 1. Protéases utilisées pour l'hydrolyse de co-produits de poissons.

| Enzyme                                 | Substrat                                   | Température (°C)       | pH                                | Utilisation                                 | Références                                    |
|--|--|------------------------|-----------------------------------|---|---|
| <b>Origine végétale</b>                |  |                        |                                   |   |   |
| Papaine                                | Viscères de morue                          | 37-80                  | 5-9                               | Source azotée                               | <i>Aspmo et al., 2005; Aspmo et al., 2005</i> |
|  | Arêtes de thon                             |                        |                                   | Intérêt nutritionnel                        | <i>Je et al., 2007</i>                        |
|  | Têtes et viscères de sardine               |                        |                                   | Libération des lipides                      | <i>Dumay, 2006</i>                            |
| Bromélaïne                             | Viscères de morue                          | 20- 65                 | 5-8                               | Source azotée                               | <i>Aspmo et al., 2005; Aspmo et al., 2005</i> |
| <b>Origine animale</b>                 |  |                        |                                   |   |   |
| Pepsine                                | Arêtes de colin                            | 37-45                  | 2-4                               | Bioactivité                                 | <i>Je et al., 2004</i>                        |
|  | Arêtes de hoki                             |                        |                                   | Bioactivité                                 | <i>Je et al., 2005</i>                        |
|  | Arêtes de thon                             |                        |                                   | Bioactivité                                 | <i>Je et al., 2007</i>                        |
|  | Arêtes de saumon et morue                  |                        |                                   | Intérêt nutritionnel                        | <i>Liaset et al., 2000</i>                    |
| Trypsine                               | Arêtes de thon                             | 37-50                  | 7,5-8                             | Bioactivité                                 | <i>Je et al., 2007</i>                        |
| Chymotrypsine                          | Arêtes de thon                             | 37                     | 8                                 | Bioactivité                                 | <i>Je et al., 2007</i>                        |
| <b>Origine bactérienne et fongique</b> |  |                        |                                   |   |   |
| Alcalase                               | Arêtes de saumon et morue                  | 35-70                  | 6-10,4                            | Intérêt nutritionnel                        | <i>Liaset et al., 2000</i>                    |
|  | Viscères de morue                          |                        |                                   | Source azotée                               | <i>Aspmo et al., 2005; Aspmo et al., 2005</i> |
|  | Têtes, peau, viscères, squelette de merlan |                        |                                   | Source azotée                               | <i>Benjakul et Morrissey, 1997</i>            |
|  | Co-produits de saumon                      |                        |                                   | Intérêt nutritionnel                        | <i>Gbogouri et al., 2004</i>                  |
|  | Co-produits de thon                        |                        |                                   | Source azotée                               | <i>Guérard et al., 2001</i>                   |
|  | Squelette de thon                          |                        |                                   | Bioactivité                                 | <i>Je et al., 2007</i>                        |
|  | Viscères de seiches et sardine             |                        |                                   | Intérêt nutritionnel                        | <i>Kechaou et al., 2009</i>                   |
|  | Os, peau de poisson                        |                        |                                   | Bioactivité                                 | <i>Picot et al., 2006</i>                     |
|  | Têtes et gonades de hareng                 |                        |                                   | Intérêt nutritionnel                        | <i>Sathivel et al., 2003</i>                  |
|  | Têtes et viscères de sardine               |                        |                                   | Libération des lipides                      | <i>Dumay, 2006</i>                            |
|  | Viscères de morue                          |                        |                                   | Libération de lipides, sources de protéines | <i>Slizyte et al., 2005</i>                   |
|  | Viscères de sardine                        |                        |                                   | Libération des lipides                      | <i>Dumay et al., 2006</i>                     |
|  | Chair de saumon                            |                        |                                   | Intérêt nutritionnel                        | <i>Kristinsson et Rasco, 2000</i>             |
|  | Viscères d'estragon                        |                        |                                   | Intérêt nutritionnel                        | <i>Ovissipour, 2009</i>                       |
| <b>Origine bactérienne et fongique</b> |  |                        |                                   |   |   |
| Protamex                               | Viscères de morue                          | 35-57                  | 5,5-8                             | Source azotée                               | <i>Aspmo et al., 2005; Aspmo et al., 2005</i> |
|  | Viscères de seiches et sardine             |                        |                                   | Intérêt nutritionnel                        | <i>Kechaou et al., 2009</i>                   |
|  | Squelette de saumon                        |                        |                                   | Source de protéines                         | <i>Liaset et al., 2002</i>                    |
|  | Squelette de saumon                        |                        |                                   | Intérêt nutritionnel                        | <i>Liaset et al., 2003</i>                    |
|  | Os, peau de poissons                       |                        |                                   | Bioactivité                                 | <i>Picot et al., 2006</i>                     |
|  | Viscères de sardine                        |                        |                                   | Libération des lipides                      | <i>Dumay et al., 2006</i>                     |
|  | Viscères de morue                          |                        |                                   | Libération des lipides                      | <i>Dauksas et al., 2005</i>                   |
|  | Têtes et viscères de sardine               |                        |                                   | Libération des lipides                      | <i>Dumay, 2006</i>                            |
|  | Têtes, viscères et queue de thon           |                        |                                   | Intérêt nutritionnel                        | <i>Nguyen, 2009</i>                           |
|  | Arêtes de morue                            |                        |                                   | Bioactivité                                 | <i>Slizyte et al., 2009</i>                   |
|  | Flavourzyme                                |                        |                                   | Squelette de colin                          | 40- 60  |
| Viscères de morue                      |  | Libération des lipides | <i>Dauksas et al., 2005</i>       |   |   |
| Viscères de seiches et sardine         |  | Intérêt nutritionnel   | <i>Kechaou et al., 2009</i>       |   |   |
| Viscères de sardine                    |  | Libération des lipides | <i>Dumay et al., 2006</i>         |   |   |
| Co-produits de morue                   |  | Intérêt nutritionnel   | <i>Slizyte et al., 2005</i>       |   |   |
| Chair de saumon                        |  | Intérêt nutritionnel   | <i>Kristinsson et Rasco, 2000</i> |   |   |
| Neutrase                               | Têtes et viscères de sardine               | 45-55                  | 5-8                               | Libération des lipides                      | <i>Dumay, 2006</i>                            |
|  | Viscères de morue                          |                        |                                   | Source azotée                               | <i>Aspmo et al., 2005; Aspmo et al., 2005</i> |
|  | Têtes, peau, viscères, squelette de merlan |                        |                                   | Source azotée                               | <i>Benjakul et Morrissey, 1997</i>            |
|  | Squelette de thon                          |                        |                                   | Bioactivité                                 | <i>Je et al., 2007</i>                        |
| Savorase                               | Co-produits de morue                       | 45-55                  | 5-8                               | Intérêt nutritionnel                        | <i>Slizyte et al., 2005</i>                   |
|  | Arêtes de saumon et morue                  |                        |                                   | Intérêt nutritionnel                        | <i>Liaset et al., 2000</i>                    |
| Kojizyme                               | Chair de colin                             | 50                     | 6,8                               | Intérêt nutritionnel                        | <i>Imm et Lee, 1999</i>                       |
| Umamizyme                              | Arêtes de saumon et morue                  | 46 -55                 | 5,5- 5,9                          | Intérêt nutritionnel                        | <i>Liaset et al., 2000</i>                    |
|  | Estomac de thon                            | 45-50                  | 7-8                               | Source azotée                               | <i>Guérard et al., 2002</i>                   |
| Lecitase                               | Viscères de morue                          | 50                     | 6,5-8,5                           | Intérêt nutritionnel                        | <i>Slizyte et al., 2005</i>                   |
| Corolase                               | Chair de saumon                            | 40-50                  | 7,5-8                             | Intérêt nutritionnel                        | <i>Kristinsson et Rasco, 2000</i>             |
| Actinidine                             | Viscères de morue                          | 15- 40                 | 4-7                               | Source azotée                               | <i>Aspmo et al., 2005; Aspmo et al., 2005</i> |

**Tableau 2.** Degrés d'hydrolyse maximaux obtenus sur des co-produits marins.

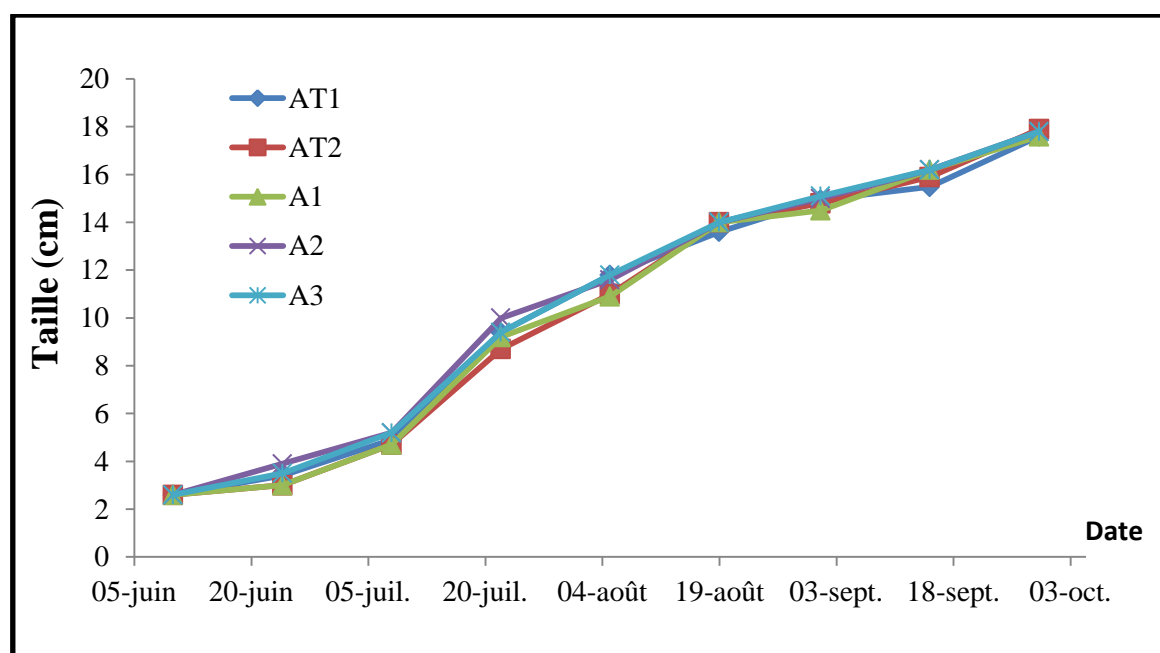
| Enzyme      | Substrat                     | Température (°C) | pH  | Ratio enzyme/substrat | Temps d'hydrolyse (h) | DH maximal obtenu (%) [DH maximal obtenu après inactivation des enzymes endogènes] | Références                            |
|-------------|------------------------------|------------------|-----|-----------------------|-----------------------|--|---------------------------------------|
| Alcalase    | Estomac de thon              | 50               | 8   | 0,2-3%                | 5,5                   | 23%  | Guérard <i>et al.</i> , 2001          |
|             | Viscères de sardine          | 50               | 8   | 0,1%                  | 24                    | 3% [11%]   | Dumay, 2006                           |
|             | Viscères de seiche           | 50               | 8   | 0,1%                  | 24                    | 7%   | Kechaou <i>et al.</i> , 2009          |
|             | Viscères et têtes de sardine | 40               | 8   | 5%                    | 2                     | 11%  | Ravallec-Plé <i>et al.</i> , 2001     |
|             | Muscle de morue              | 40               | 8   | 1,0%                  | 2                     | 24,3%  | Ravallec-Plé <i>et al.</i> , 2000     |
|             | Hareng                       | 50               | 8   | 0,5%                  | 1                     | 36%  | Liceaga-Gesualdo et Li-Chan, 1999     |
|             | Truite                       | 58               | 8   | 1,0%                  | 2                     | 7,8%   | Al-Sayed Mahmoud <i>et al.</i> , 2008 |
|             | Têtes de sardine             | 50               | 8   | 0,1%                  | 24                    | 15%  | Dumay, 2006                           |
|             | Têtes de saumon              | 50               | 8   | 0,5%                  | 0,8                   | 10,5% [8,8%]   | Sathivel <i>et al.</i> , 2005a        |
| Protamex    | Viscères de sardine          | 50               | 8   | 0,1%                  | 24                    | 3% [6%]  | Dumay, 2006                           |
|             | Viscères de seiche           | 50               | 8   | 0,1%                  | 24                    | 3%   | Kechaou <i>et al.</i> , 2009          |
|             | Truite (40g)                 | 40               | 6   | 0,7g                  | 2                     | 2,3%   | Al-Sayed Mahmoud <i>et al.</i> , 2008 |
|             | Têtes de sardine             | 50               | 8   | 0,1%                  | 24                    | 20%  | Dumay, 2006                           |
| Flavourzyme | Viscères de sardine          | 50               | 8   | 1,5%                  | 24                    | 2% [6%]  | Dumay, 2006                           |
|             | Viscères de seiche           | 50               | 8   | 1,5%                  | 0                     | 7%   | Kechaou <i>et al.</i> , 2009          |
|             | Têtes de sardine             | 50               | 8   | 1,5%                  | 24                    | 17%  | Dumay, 2006                           |
| Neutrase    | Truite                       | 50               | 7,5 | 1,0%                  | 2                     | 3,2%   | Al-Sayed Mahmoud <i>et al.</i> , 2008 |
| Umamizyme   | Estomac de thon              | 45               | 7   | 1,5%                  | 4                     | 22,55%   | Guérard <i>et al.</i> , 2002          |
| Pepsine     | Raie                         | 37               | 2,5 | 1,0%                  | 2                     | 15,88%   | Pastoriza <i>et al.</i> , 2003        |
| Papaine     | Raie                         | 65               | 6,3 | 1,0%                  | 2                     | 15,59%   | Pastoriza <i>et al.</i> , 2003        |

**Tableau 3.** Composition de l'aliment de type « Coppens » utilisé en élevage intensif.

|  |  |
|--|--|
| <p><b>Type de produit : PREMIUM COARSE</b><br/>(6.0 mm)<br/>Développé pour les techniques de pêche de poissons blancs, moderne comme amorces de fond, idéal pour les méthodes de pêche "au feeder". Très appétent.</p> <p><b>Composants analytiques</b></p> <p><b>Protéine brut 32 %</b><br/>Matières grasses 9 %<br/>Cellulose brute 2.4 %<br/>Cendres brutes 5.3 %<br/>Phosphore 0.87 %<br/>Calcium 0.7 %<br/>Et Vitamines</p> <p><b>Ingrédients</b><br/>Blé, tourteaux de soja, gluten de blé, huile de poisson, monocalciumphosphate, farine de krill.<br/>Source de vitamine C : polyphosphate d'acide ascorbique</p> | <p><b>Type de produit : GARDON (1.5 mm)</b><br/>Micro granulés premium, très nutritif, très appétent</p> <p><b>Composants analytiques</b></p> <p><b>Protéine brut 40 %</b><br/>Matières grasses 10 %<br/>Cellulose brute 1.2 %<br/>Cendres brutes 6.9 %<br/>Phosphore 1.12 %<br/>Calcium 1.3 %<br/>Sodium 0.2 %<br/>Et Vitamines</p> <p><b>Ingrédients</b><br/>Farine de blé, tourteaux de soja, farine de volaille, farine de poisson, gluten de blé, farine de sang, lécithine, huile de poisson, farine d'hémoglobine, huile de colza, monocalciumphosphate<br/>Source de vitamine C : polyphosphate d'acide ascorbique</p> |
|--|--|

**Tableau 4.** Composition de l'aliment pour la carpe, préparé à base de farine végétale (source CNRDPA).

| <b>Composition (%)</b>        |             |
|-------------------------------|-------------|
| Son de blé                    | 30          |
| Farine de maïs                | 9,5         |
| Tourteau de soja              | 55          |
| Farine de poisson             | 0           |
| Phosphate bicalcique          | 0,8         |
| Carbonate de calcium          | 1,2         |
| Huile de soja /poisson        | 2,5         |
| CMV                           | 1           |
| <b>Composition analytique</b> |             |
| Matières minérales (%)        | 8           |
| Matières protéiques (%)       | <b>32,5</b> |
| Matières grasses (%)          | 4,85        |



**Figure 1.** Courbes de croissance des tailles de tilapia (*Oreochromis sp*) alimenté par différent aliment pendant quatre mois d'expériences.

**Tableau 5.** Poids moyen individuel des alevins de tilapia rouge (moyenne  $\pm$  ET (n = 30)) pour une période d'élevage de quatre mois.

| Date           | AT1             | AT2              | A1               | A3               | A4               |
|----------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| <b>10-juin</b> | 0,22 $\pm$ 0,14 | 0,22 $\pm$ 0,11  | 0,22 $\pm$ 0,14  | 0,22 $\pm$ 0,09  | 0,22 $\pm$ 0,05  |
| <b>24-juin</b> | 0,5 $\pm$ 0,09  | 0,79 $\pm$ 0,03  | 0,82 $\pm$ 0,07  | 0,89 $\pm$ 0,03  | 0,96 $\pm$ 0,36  |
| <b>08-juil</b> | 3,25 $\pm$ 0,27 | 2,52 $\pm$ 0,50  | 2,54 $\pm$ 0,52  | 3,69 $\pm$ 0,79  | 3,75 $\pm$ 1,35  |
| <b>22-juil</b> | 6,4 $\pm$ 0,45  | 11,5 $\pm$ 0,55  | 10,98 $\pm$ 1,14 | 13,5 $\pm$ 1,22  | 15,82 $\pm$ 1,87 |
| <b>05-août</b> | 20,1 $\pm$ 0,26 | 26,1 $\pm$ 0,9   | 28 $\pm$ 0,96    | 29,4 $\pm$ 1,34  | 32 $\pm$ 0,98    |
| <b>19-août</b> | 31,5 $\pm$ 0,65 | 39,9 $\pm$ 1,33  | 44,11 $\pm$ 1,26 | 47,32 $\pm$ 2,03 | 49 $\pm$ 0,81    |
| <b>01-sept</b> | 43,4 $\pm$ 0,75 | 56,2 $\pm$ 1,69  | 57 $\pm$ 0,60    | 59,98 $\pm$ 1,31 | 67 $\pm$ 1,4     |
| <b>15-sept</b> | 58,6 $\pm$ 0,87 | 82 $\pm$ 2,00    | 81,4 $\pm$ 1,54  | 89 $\pm$ 1,11    | 98 $\pm$ 1,67    |
| <b>29-sept</b> | 84,9 $\pm$ 0,88 | 114,5 $\pm$ 2,12 | 118 $\pm$ 2,87   | 120,9 $\pm$ 1,73 | 126 $\pm$ 1,63   |

**Tableau 6.** Taille moyenne individuelle des alevins de tilapia rouge (moyenne  $\pm$  ET (n = 30)) pour une période d'élevage de quatre mois.

| <b>Date</b>    | <b>AT1</b>       | <b>AT2</b>      | <b>A1</b>       | <b>A2</b>       | <b>A3</b>       |
|----------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| <b>10-juin</b> | 2,6 $\pm$ 0,3    | 2,6 $\pm$ 0,18  | 2,6 $\pm$ 0,22  | 2,6 $\pm$ 0,2   | 2,6 $\pm$ 0,3   |
| <b>24-juin</b> | 3,54 $\pm$ 0,98  | 3 $\pm$ 1,23    | 3 $\pm$ 0,95    | 3,9 $\pm$ 0,24  | 3,5 $\pm$ 1,66  |
| <b>08-juil</b> | 4,9 $\pm$ 1,0    | 4,7 $\pm$ 0,98  | 4,7 $\pm$ 0,71  | 5,2 $\pm$ 1,02  | 5,2 $\pm$ 1,24  |
| <b>22-juil</b> | 9,4 $\pm$ 0,86   | 8,7 $\pm$ 1,06  | 9,2 $\pm$ 0,55  | 10 $\pm$ 0,42   | 9,4 $\pm$ 1,10  |
| <b>05-août</b> | 11,8 $\pm$ 0,96  | 11 $\pm$ 1,22   | 10,9 $\pm$ 1,0  | 11,6 $\pm$ 0,21 | 11,8 $\pm$ 0,87 |
| <b>19-août</b> | 13,6 $\pm$ 1,02  | 14 $\pm$ 1,54   | 14 $\pm$ 2,0    | 14 $\pm$ 0,74   | 14 $\pm$ 2,02   |
| <b>01-sept</b> | 14,94 $\pm$ 1,02 | 14,8 $\pm$ 0,88 | 14,2 $\pm$ 1,22 | 15 $\pm$ 1,08   | 15,1 $\pm$ 0,77 |
| <b>15-sept</b> | 15,48 $\pm$ 1,32 | 15,9 $\pm$ 1,11 | 16,2 $\pm$ 1,1  | 16,2 $\pm$ 0,7  | 16,2 $\pm$ 0,9  |
| <b>29-sept</b> | 17,6 $\pm$ 1,46  | 17,9 $\pm$ 1,6  | 17,6 $\pm$ 0,7  | 17,8 $\pm$ 1,24 | 17,8 $\pm$ 1,69 |



**Figure 2.** Etapes principales de production d'aliment pour tilapia