

République Algérienne démocratique et populaire

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



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة والحياة

DEPARTEMENT DES SCIENCES ALIMENTAIRES

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par :

Mlle SMAI IKRAM

Mlle HAMMOU FATIMA ZOHRA

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCES ALIMENTAIRES

Spécialité: Nutrition et pathologie

Thème

Production et caractérisation des peptides bioactifs à partir de la chair d'escargot Helix aspersa muller.

Soutenu publiquement le 30/06/2026

Devant le jury

Présidente	Pr ZIAR Hasnia	Prof	Univ.Mostaganem
Examinatrice	Dr ALACHAHER Fatima Zohra	MCB	Univ.Mostaganem
Encadrante	Dr Yahla Iméne.	MCA	Univ.Mostaganem

Année universitaire : 2025-2026

Remerciements

*Au nom d'Allah le Tout Miséricordieux, Bénédiction et salut soient sur notre prophète
Mohamed.*

*Tout d'abord, on remercie Allah, notre créateur de nous avoir accordé vie, santé, sagesse et
paix de l'esprit sans quoi nous n'aurions pu achever ce modeste travail.*

On tient à exprimer notre vif et sincère remerciement à notre encadrante, Madame **Imène
Yahla** Pour avoir assuré la direction de ce travail, pour son bon déroulement et sa grande
disponibilité, ses conseils et sa présence précieuse durant l'élaboration de ce travail. Elle a toujours
su nous faire confiance et nous apporter l'aide nécessaire, tant sur le plan scientifique que moral,
de plus ce fut un réel plaisir d'avoir eu l'opportunité d'être sous sa direction, ce qui a rendu cette
Expérience enrichissante et mémorable.

On remercie l'ensemble des membres du jury qui ont accepté d'examiner et d'évaluer notre travail,
on est honorées par leurs présences.

On remercie notre famille qui nous a toujours soutenus, nous a toujours montré amour et respect et
nous a permis d'arriver où nous sommes aujourd'hui,

Enfin, on remercie tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à
l'élaboration de ce travail.

Dédicaces

JedédieCeModeste Travail

Àma chèremère, Boukari Samia,

Sourcetendresse,depatienceetdegénérosité.Jetermerciépourtes
sacrifices et ton soutien inconditionnel, qui ont été la véritable force de
ma réussite.

Àmoncherpère,Samaï Mohammed,

Qu'Allah lui accorde Sa miséricorde et l'accueille dans Son vaste
paradis.Tonsouvenirresteraàjamaisgravédansmoncœur,ettes
valeurs continueront d'éclairer mon chemin.

Àmon cher grand-père,Boukari Hadj,

Poursesconseilsprécieuxet sasagessequim'onttoujoursguidée.
J'adresse mes sincères remerciements à mon encadrante, **Madame Imène Yahla,**
Pour son accompagnement, ses précieux conseils et son soutien tout au long de
La réalisation de ce travail.

Àmoncheroncle,BoukariAbdelhalim, Pour
sa bienveillance et son soutien.

Àmesfrèresetsœurs,

Mercipourvotresoutienconstantetvotreprésenceàmes côtésdans toutes
les étapes de mon parcours.

Àma chèretante, BoukariFatma,

Poursonaffection,sonencouragementetson soutien.

À ma **chère collègueFatima Zohra,** en témoignage de mon affection et de ma
Gratitude pour son soutien, sa bienveillance et sa présence tout au long de ce parcours.

Àtous les membres dema famille,

Quionttoujoursétéunpilieretunsoutienàchaqueétapedemon
chemin.



Dédicaces

Je dédie cet ouvrage,

Au nom d'Allah, le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux.

Je remercie **Allah** le Tout-Puissant qui m'a accordé la force, la patience et la volonté nécessaires pour mener à bien ce travail et atteindre cet accomplissement.

Je dédie ce modeste travail de fin d'études à **mes très chers parents**, pour leur amour inconditionnel, leurs sacrifices, leurs encouragements et leur soutien constant tout au long de mon parcours.

À **ma chère sœur Nesrine**, pour son affection, sa présence et son soutien précieux.

À **mes chers frères Bilalet Alaa**, pour leurs encouragements et leur aide tout au long de cette aventure.

À **mon encadrante Mme Yahla Imane**, en témoignage de ma profonde gratitude pour ses conseils, son accompagnement et son précieux encadrement.

À **ma chère collègue Ikram**, pour son soutien, sa gentillesse et les moments partagés durant cette période.

Enfin, à **toutes les personnes** qui ont contribué de près ou de loin à ma réussite, je leur exprime ma sincère reconnaissance.

Je vous dédie ce travail avec tout mon affection et mon respect.

Fatima Zahra.



Résumé

Les protéines d'origine naturelle constituent une source importante de peptides bioactifs aux propriétés biologiques variées, notamment anti-inflammatoires. Ce travail a pour objectif d'extraire les protéines de l'escargot *Helix aspersa* Müller, de produire des biopeptides par hydrolyse enzymatique à la pepsine et d'évaluer leur activité anti-inflammatoire. La teneur en protéines a été déterminée avant et après hydrolyse par la méthode de Lowry. L'activité anti-inflammatoire des extraits protéiques et des hydrolysats a été évaluée **in vitro** par le test d'inhibition de la dénaturation des protéines. Les résultats montrent que notre extrait possède une activité anti-inflammatoire de 50%. Ces observations mettent en évidence le potentiel de *Helix aspersa* Müller comme source naturelle de peptides bioactifs pouvant être valorisés dans les domaines alimentaire, nutraceutique et pharmaceutique.

Mots-clés : *Helix aspersa* Müller, protéines, biopeptides, hydrolyse enzymatique, pepsine, méthode de Lowry, activité anti-inflammatoire.

Abstract

Natural proteins represent an important source of bioactive peptides with diverse biological properties, particularly anti-inflammatory activity. This study aimed to extract proteins from the edible snail *Helix aspersa* Müller, produce bioactive peptides through enzymatic hydrolysis using pepsin, and evaluate their anti-inflammatory activity. Protein content was determined before and after hydrolysis using the Lowry method. The anti-inflammatory activity of both the protein extract and the hydrolysates was assessed *in vitro* by the protein denaturation inhibition assay. The results showed that the protein extract exhibited an anti-inflammatory activity of 50%. These findings highlight the potential of *Helix aspersa* Müller as a natural source of bioactive peptides with promising applications in the food, nutraceutical, and pharmaceutical industries.

Keywords: *Helix aspersa* Müller; proteins; bioactive peptides; enzymatic hydrolysis; pepsin; Lowry method; anti-inflammatory activity.

Liste des figures

Figure 1: structure chimique de peptides bioactifs.....	6
Figure 2: Schéma de structure d'un peptide.....	6
Figure 3: les différentes Libération des peptides bioactifs.....	7
Figure 4: Les différentes fonctions physiologiques des peptides bioactifs sur l'homme.....	9
Figure 5: Les activités biologiques des peptides.....	10
Figure 6 : Helix aspersa, espèce d'escargot terrestre pulmoné : présence dans les pays européens; Distribution d'Helix aspersa	12
Figure 7: Helix aspersa (Escargot petit-gris).....	14
Figure 8: Schéma en coupe de l'anatomie d'un escargot.....	16
Figure 9: Le cycle biologique de l'escargot.....	17
Figure 10: le cycle de vie de l'escargot Helix aspersa.....	18
Figure 11: L'habitat d'escargot.....	19
Figure 12: Les escargots terrestres (Helix aspersa) utilisés dans cette étude.....	24
Figure 13: Préparation de l'échantillon (Helix aspersa).....	25
Figure 14: L'extraction des protéines.....	27
Figure 15: protocole de dosage des protéines par la méthode de Lowry.....	28
Figure 16: spectrophotomètre à 750nm.....	29
Figure 17: Schéma de préparation des dilutions de l'extrait protéique.....	30
Figure 18: Schéma de préparation des dilutions du mélange de dosage au blanc.....	31
Figure 19: protocole expérimental de préparation des dilutions de l'extrait protéique et du mélange de dosage au blanc.....	32
Figure 20: Dosage des protéines par la méthode de Lowry.....	Erreur ! Signet non défini.

Liste des Tableaux

Tableau 1: Principales méthodes de production de peptides bioactifs.	7
Tableau 2: Composition nutritionnelle moyenne de la chair d'escargot (pour 100 g de chair crue/nature).	20
Tableau 3: Calcul du pourcentage d'activité anti-inflammatoire de différentes concentrations.	Erreur ! Signet non défini.
Tableau 4: Liste des matériels, équipements et réactifs utilisés dans la présente étude.	Erreur ! Signet non défini.
Tableau 5: Valeurs d'absorbance de l'échantillon et du contrôle (diclofénac) obtenues par la méthode d'inhibition de la dénaturation protéique.	Erreur ! Signet non défini.

Liste des abréviations

AA	Acides aminés
Biuret	Méthode de dosage des protéines basée sur les liaisons peptidiques
DH	Degré d'hydrolyse
DO	Densité optique
g/L	Gramme par litre
HCl	Acide chlorhydrique
LC-MS/MS	Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem
Lowry	Méthode de dosage des protéines
mg/mL	Milligramme par millilitre
NaCl	Chlorure de sodium
NaOH	Hydroxyde de sodium
Nm	Nanomètre
pH	Potentiel hydrogène
rpm	Revolutions per minute (tours par minute)
SDS-PAGE	Électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de SDS
TCA	Acide trichloroacétique
UV	Ultraviolet
UV-Vis	Spectrophotométrie ultraviolet-visible
Vc	Valeur du contrôle
Vt	Valeur de traitement (échantillon)

Table des matières

Remerciments

Dédicaces

Résumé

Abstract

الملخص

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

INTRODUCTION GENERALE.....13

Rappels bibliographiques15

Chapitre I : Généralités sur les peptides bioactifs et la chair d'escargot15

➤ Section1	5
1. Généralitéssurles peptides bioactifs	5
1.1 Définitionetpropriétésdespeptides bioactifs.....	5
1.2 Libérationdespeptidesbioactifs	7
1.3 Productionettransformationdepeptidesbioactifs	7
1.4 Sourcesdespeptidesbioactifs	8
1.5 Fonctionsphysiologiquesdespeptides bioactifs.....	8
b) Activitéantioxydante.....	8
c) Activitéanticancéreuse.....	8
d) Activitéostéoprotectrice	9
1.6 Effetspotentielssurlasanté.....	10
➤ Section2.....	12
2.1.1 Dans le monde.....	13
2.1.2 En Algérie.....	13
2.2 L'escargotHelix aspersa.....	13
2.4 Anatomieexterne d'escargot	14
2.5 AnatomieInterned'escargot	16
2.6 Lecycle biologiqueedel'escargot.....	17
2.7 Croissancedel'escargot	17
2.8 Physiologie de l'escargot.....	19
2.7.1 Activité saisonnière	19
2.7.2 Activitéjournalière	20
2.8 Compositionnutritionnelleetintérêtsdel'escargot.....	20
2.8.1 Valeurnutritionnelledelavianded'escargot.....	21
2.8.2 Matièresgrassesetacidesgrasbénéfiques.....	22

2.8.3	Vitaminesetminéraux.....	22
2.8.4	Intérêtséconomiquesetagroalimentaires.....	22
2.8.5	Intérêtsmédicinauxet cosmétiques.....	23

Partie expérimentale

Chapitre II : Matériels et Méthodes

3.	Echantillonsbiologiques	24
3.2	Protocold'expérimentale.....	24
3.2.2	Extractionsdesprotéines.....	25
A)	Préparation detamponPBS (PhosphateBufferedSaline)1X,pH7,4.....	Erreur ! Signet non défini.
B)	Ledosagedesprotéinesparlaméthodede Lowry.....	27
3.2.3	Méthoded'inhibitiondeladénaturationprotéique	29
1.	Préparationdel'extraitdediclofénac.....	31
3.2.4	Hydrolyseenzymatique	33
a)	Préparationdelasolutionprotéique5%(w/v).....	34
b)	AjustementdupH.....	34
c)	Préparationdelapepsine.....	34
d)	Hydrolyseenzymatique	34
e)	Arrêtdelaréactionenzymatique.....	35
f)	Centrifugation.....	35
g)	Conservation.....	35

Chapitre III Résultats Et discussion

4.1	DosagedesprotéinesparlaméthodedeLowry.....	37
4.2	Activitéanti-inflammatoire:méthoded'inhibitiondeladénaturationprotéique.....	39
4.3	Rendement.....	Erreur ! Signet non défini.
4.4	Hydrolyseenzymatique	43
ConclusionGénérale		45
Référencebibliographique.....		46
Annexe.....		54
Annexe 1		Erreur ! Signet non défini.
Annexe 2		Erreur ! Signet non défini.
Annexe3		55
Annexe4		56

Introduction



INTRODUCTION

Dans de nombreux pays occidentaux ainsi que dans certains pays en développement, la chair d'escargots terrestres, récoltés dans la nature ou élevés en héliciculture, est considérée comme une délicatesse très appréciée (**Özogul et Olgunoglu, 2005**). Les qualités organoleptiques particulières de la chair d'escargot, associées à sa richesse en protéines, sa faible teneur en matières grasses ainsi qu'à la présence de vitamines et de minéraux essentiels, expliquent l'intérêt croissant porté à cette ressource alimentaire (**Çağltay et al., 2011**).

Parmi les espèces les plus connues, *Helix aspersa* occupe une place importante grâce à sa large répartition dans les régions tempérées. Cette espèce cosmopolite est particulièrement présente en Algérie, où elle est intégrée aux pratiques culinaires traditionnelles de plusieurs régions (**Zidane & Hadjout, 2022**). Depuis la préhistoire, les escargots figurent parmi les aliments consommés par l'être humain et représentent aujourd'hui une source alimentaire alternative prometteuse (**Sudalian et al., 2021**).

La chair d'escargot possède une valeur nutritionnelle élevée. Elle est caractérisée par une teneur importante en protéines, variant généralement entre 5,8 et 20 %, alors que sa teneur en lipides reste faible et ne dépasse pas 2,5 % (**Sudalian et al., 2021**). Elle constitue également une excellente source d'acides aminés essentiels et non essentiels, ainsi que de minéraux indispensables tels que le calcium, le phosphore, le fer, le zinc et le magnésium (**Pissia et al., 2021 ; Pissia et al., 2022**). De plus, sa faible teneur en cholestérol fait de cette viande un aliment adapté aux régimes équilibrés et hypocaloriques. Selon (**Anand et al., 2026**), la chair d'escargot représente une source prometteuse de protéines alternatives et de composés bioactifs à fort intérêt nutritionnel et thérapeutique.

Les escargots comestibles occupent également une place importante dans la médecine traditionnelle. Leur chair, riche en fer et pauvre en matières grasses, est reconnue pour ses effets bénéfiques dans la prévention et le traitement de certaines carences nutritionnelles, notamment l'anémie (**Cobbinah et al., 2008**). En parallèle, le mucus d'escargot représente un mélange complexe de composés biologiquement actifs possédant des propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et cicatrisantes.

Par ailleurs, plusieurs études récentes ont démontré que la chair d'escargot contient des peptides bioactifs et d'autres molécules fonctionnelles susceptibles d'exercer des effets bénéfiques sur la santé humaine (**Hayes et Mora, 2021**).

Ces composés présentent des activités antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires, faisant des escargots une source potentielle d'ingrédients fonctionnels pour l'industrie agroalimentaire et biomédicale. (**Anand et al., 2026**) ont également souligné l'importance pharmacologique des composés dérivés des escargots dans le développement futur d'aliments fonctionnels et de biomolécules thérapeutiques. Cependant, les peptides bioactifs demeurent encore insuffisamment exploités en raison des contraintes liées à leur biodisponibilité, leur stabilité et leur efficacité biologique après ingestion orale (**Doherty et al., 2021**).

En outre, les escargots possèdent plusieurs caractéristiques biologiques importantes, notamment leur capacité à accumuler différents xénobiotiques dans leurs tissus, leur large distribution géographique, leur facilité d'échantillonnage ainsi que leur tolérance à divers contaminants organiques et métalliques (**KS El Gendy et al., 2021**).

L'objectif principal de ce mémoire est de produire et de caractériser des peptides bioactifs à partir de la chair d'escargots, afin d'évaluer leur potentiel en tant que source d'ingrédients fonctionnels à intérêt nutritionnel et/ou thérapeutique.

Ce travail est structuré en quatre parties:

- **Chapitre I:** Cette partie théorique présente des généralités sur les escargots, leur valeur nutritionnelle, la chair d'escargot ainsi que les peptides bioactifs et leurs fonctions physiologiques.
- **Chapitre II :**
Cette partie pratique décrit les protocoles expérimentaux suivis au cours de l'étude ainsi que les différentes techniques mises en œuvre.
- **Chapitre III:** Ce chapitre est consacré à la présentation des résultats obtenus ainsi qu'à leur discussion et interprétation.

Enfin, une conclusion générale vient synthétiser les principaux résultats et apports de ce travail de recherche.

Rappels bibliographiques

Chapitre I: Généralités *sur les peptides bioactifs et la chair d'escargot*



Les peptides bioactifs suscitent aujourd'hui un intérêt croissant grâce à leurs nombreuses propriétés biologiques et thérapeutiques. Parmi les différentes sources naturelles étudiées, la chair d'escargot représente une source prometteuse de composés bioactifs à fort potentiel nutritionnel et biomédical. Ce chapitre présente une synthèse bibliographique portant sur les peptides bioactifs ainsi que sur les caractéristiques biologiques, anatomiques et nutritionnelles de l'escargot *Helix aspersa*.

➤ Section 1

1. Généralités sur les peptides bioactifs

1.1 Définition et propriétés des peptides bioactifs

Les peptides ont une importance cruciale dans les processus physiologiques de base. Ils sont indispensables pour de nombreux processus biochimiques. Ils portent leur nom en fonction du nombre de résidus d'acides aminés qui les composent.

À mesure que les chaînes peptidiques se constituent à partir de la jonction de la structure primaire des acides aminés, elles peuvent se développer pour former un oligopeptide lorsqu'elles contiennent entre 10 et 20 acides aminés dans la chaîne. Dans les organismes vivants, chaque acide aminé s'unit à l'extrémité amino d'un autre acide aminé pour constituer une chaîne peptidique.

Selon **Forbes et Krishnamurthy (2022)**, si une chaîne dépasse 20 acides aminés, on parle de polypeptide, c'est-à-dire d'une chaîne non ramifiée d'acides aminés.

Les propriétés antioxydantes des peptides bioactifs permettent de neutraliser les radicaux libres responsables du vieillissement cellulaire et de plusieurs maladies chroniques. Les peptides antimicrobiens, quant à eux, peuvent inhiber la croissance de certaines bactéries pathogènes, levures et champignons.

De plus, certains peptides présentent une activité inhibitrice de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA), contribuant ainsi à la diminution de la pression artérielle (**Korhonen, H., & Pihlanto, A., 2006**).

Grâce à leurs nombreuses propriétés fonctionnelles et thérapeutiques, les peptides bioactifs suscitent aujourd'hui un grand intérêt dans les domaines de l'industrie alimentaire, pharmaceutique et nutraceutique. Ils sont considérés comme des composés prometteurs pour

le développement d'aliments fonctionnels et de nouveaux agents thérapeutiques naturels (Daliri, & Lee, B.H. (2017).

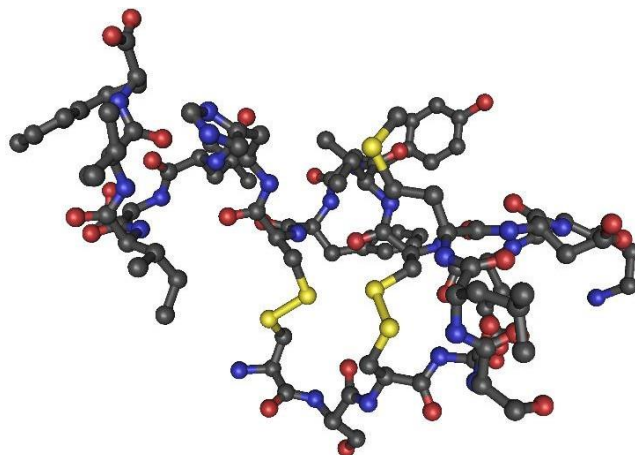


Figure 1: structure chimique de peptides bioactifs.

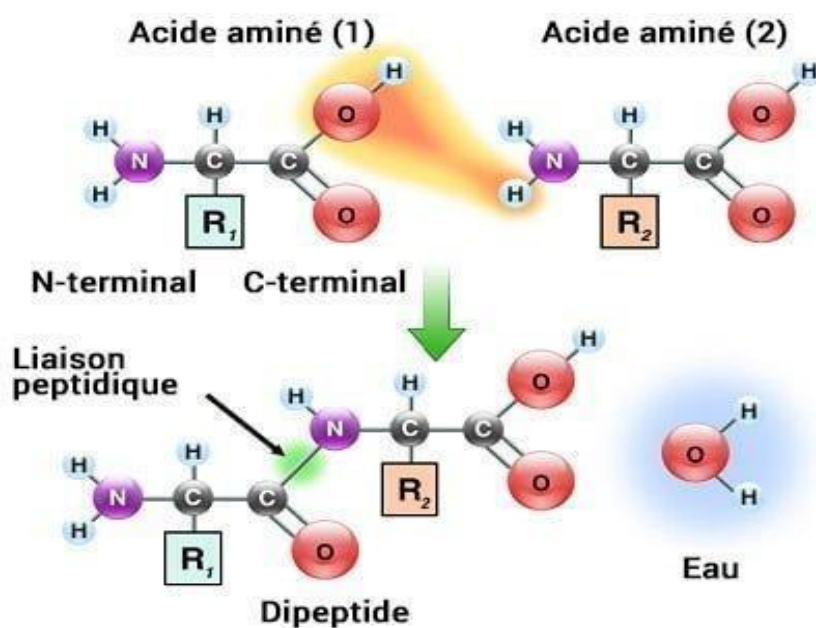


Figure 2: Schéma de la structure d'un peptide.

Les peptides bioactifs c'est un objet d'une attention scientifique particulière pour leur large éventail de bio activités, comprenant principalement des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes (Abrash et al., 2018), contre un large éventail de bactéries gram-positives par exemple *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* et *Propionibacterium acnes*, et gram-négatives tels que *E. coli*, *Helicobacter pylori* (Dolashki et al., 2018; Dolashki et al., 2020).

1.2 Libération des peptides bioactifs

Selon la recherche de **Rutherford-Markwick (2012)**, on dénombre trois procédés majeurs par lesquels les peptides bioactifs peuvent être libérés :

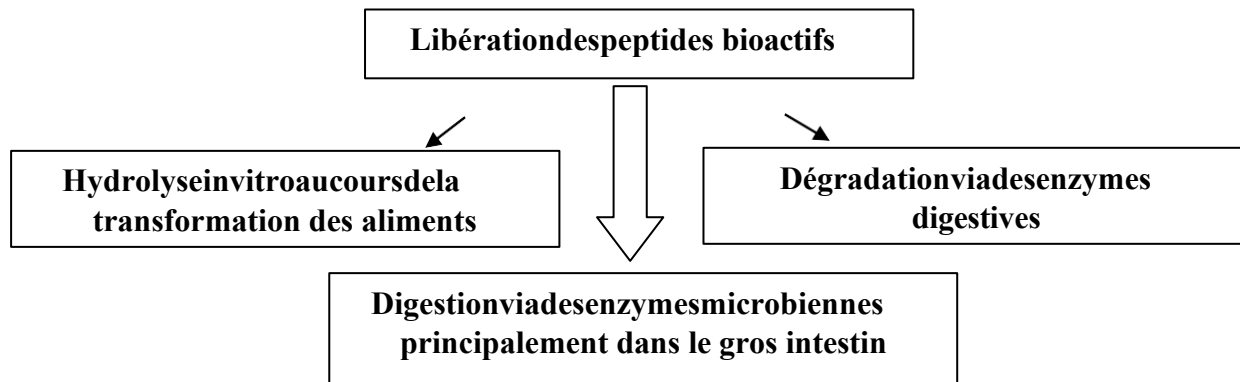


Figure 3 : les différentes libérations des peptides bioactifs.

1.3 Production et transformation de peptides bioactifs

Comme l'indiquent les études d'Akbarian et al. (2022) ainsi que de Lee (2017), l'hydrolyse enzymatique des protéines alimentaires ou la fermentation sont les techniques utilisées pour produire des peptides bioactifs ; Toutefois, il a été démontré que des extraits aqueux de champignons et certaines parties de végétaux contiennent des peptides bioactifs (**Geng et al., 2016**).

Tableau 1 : Principales méthodes de production des peptides bioactifs.

Méthode de production	Principe	Techniques utilisées
Hydrolyse enzymatique	Production des peptides bioactifs par hydrolyse des protéines à l'aide d'enzymes digestives, microbiennes ou végétales (Zambrowicz et al., 2013 ; Shahidi et al., 2008).	Pepsine, trypsine, papaïne, bromélaïne, HHP
Fermentation microbienne	Dégradation des protéines par des microorganismes afin de libérer des peptides bioactifs (Griffith et al., 2013 ; Chen et al., 2007).	<i>Lactobacillus helveticus</i> , <i>Lactococcus lactis</i>
Synthèse chimique	Assemblage chimique des acides aminés pour obtenir des peptides spécifiques (Bray, 2003 ; Albericio & El-Faham, 2018).	Phase soluble, phase solide (Fmoc)
Production recombinante	Production des peptides par expression génétique dans des microorganismes hôtes (Antosova et al., 2009 ; Drucker et al., 2010).	<i>Pichia pastoris</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Méthode hybride	Combinaison des méthodes biologiques et chimiques pour améliorer les propriétés des peptides (Andersson et al., 2000).	Ingénierie peptidique, modification chimique

1.4 Sources des peptides bioactifs

Les peptides bioactifs proviennent principalement de sources animales et végétales riches en protéines. Les sources animales comprennent le lait et ses dérivés, les viandes, les poissons, les escargots ainsi que les organismes marins tels que les mollusques, les crustacés et les algues. Les peptides issus de ces sources présentent diverses activités biologiques, notamment antioxydantes, antihypertensives, antimicrobiennes et anticancéreuses (**Harnedy & Fitzgerald, 2012 ; Akbarian et al., 2022**).

Les sources végétales regroupent principalement les légumineuses, les céréales et les oléagineux. Ces protéines végétales constituent une source importante de peptides bioactifs possédant des propriétés antioxydantes, antihypertensives, antimicrobiennes et immunomodulatrices. Les peptides d'origine végétale suscitent un intérêt croissant grâce à leur disponibilité, leur faible coût et leurs effets bénéfiques sur la santé humaine (**Salas et al., 2015 ; Boman, 2000 ; Akbarian et al., 2022**).

1.5 Fonctions physiologiques des peptides bioactifs

a) Activité antimicrobienne

Les peptides antimicrobiens (AMP) sont des molécules naturelles présentes chez plusieurs organismes vivants. Généralement cationiques et amphiphiles, ils agissent en se fixant sur les membranes des bactéries, ce qui perturbe leur structure et provoque finalement la mort cellulaire (**Lei et al., 2019**).

b) Activité antioxydante

Les peptides antioxydants contribuent à la prévention de plusieurs maladies chroniques comme les maladies cardiovasculaires, le cancer et le diabète. Ils possèdent également une capacité de chélation des ions métalliques et limitent la peroxydation des lipides, ce qui favorise leur utilisation potentielle dans le domaine alimentaire (**Zou et al., 2016**).

c) Activité anti cancéreuse

Les peptides anticancéreux (ACP) participent à la prévention et au traitement des cellules tumorales. Étant d'origine naturelle, ils présentent une bonne efficacité, une meilleure spécificité et moins d'effets secondaires que certains composés synthétiques (**Chen et al., 2016 ; Bhandari et al., 2019**).

d) Activité ostéoprotectrice

Les peptides ostéoprotecteurs jouent un rôle dans la protection des os et la prévention de l'ostéoporose. Certains peptides dérivés du lactosérum favorisent l'absorption du calcium et contribuent au maintien de la santé osseuse (Bhandari *et al.*, 2020). Avec l'apparition d'applications bénéfiques des peptides bioactifs dans le domaine de la santé et de la nutrition, ces substances ont suscité un intérêt spécifique pour les maladies et troubles qui ne disposent pas d'une véritable stratégie thérapeutique



Figure 4: Les différentes fonctions physiologiques des peptides bioactifs sur l'homme

(Akbarian *et al.*, 2022).

CHAPITRE I: GÉNÉRALITÉS SUR LES PEPTIDES BIOACTIFS ET LA CHAIR D'ESCARGOT

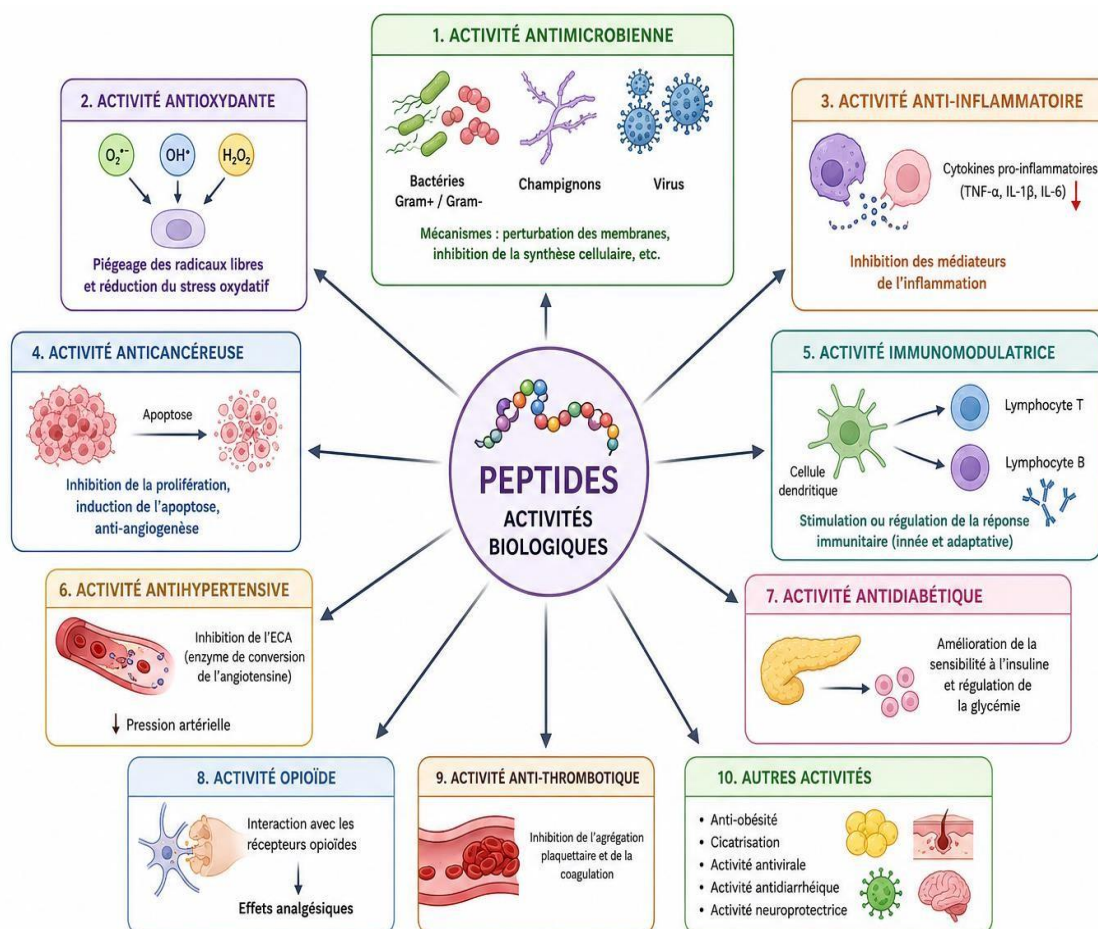


Figure 5: Les activités biologiques des peptides

1.6 Effets potentiels sur la santé

Ces dernières années, les peptides bioactifs ont suscité un intérêt croissant dans le domaine de la nutrition et des sciences alimentaires en raison de leurs propriétés fonctionnelles. Plusieurs études ont démontré qu'ils peuvent présenter des activités antimicrobiennes, antioxydantes, antihypertensives et immunomodulatrices, ce qui les rend prometteurs pour le développement d'aliments fonctionnels et de nutraceutiques (Eric Daliri et al., 2017).

Dans le domaine alimentaire, différentes recherches se concentrent sur l'intégration de ces peptides dans des formulations innovantes afin d'améliorer les fonctions métaboliques humaines. Par exemple, certains peptides issus des protéines laitières peuvent contribuer au renforcement du système immunitaire et à la réduction du risque de maladies métaboliques telles que l'obésité. D'autres peptides, notamment ceux issus de sources végétales comme le soja ou les légumineuses, ont montré des effets intéressants sur la régulation de la glycémie en inhibant certains transporteurs du glucose (Jolanta Artym et Michał Zimecki, 2013).

De plus, des peptides capables d'inhiber l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE) ont été identifiés chez plusieurs sources animales et végétales, contribuant ainsi à la régulation de la pression artérielle. D'autres encore présentent des propriétés hypocholestérolémiantes en influençant l'absorption et le métabolisme des lipides (**Walther et Robert, 2011**).

Cependant, malgré ces résultats prometteurs, l'utilisation des peptides bioactifs dans les aliments fonctionnels reste encore en développement. Leur efficacité dépend fortement de leur stabilité, de leur biodisponibilité et de leur sécurité d'utilisation. Ainsi, des études complémentaires sont nécessaires pour confirmer leurs effets *in vivo* et évaluer leur potentiel réel en tant qu'ingrédients thérapeutiques et nutritionnels (**Walther et Robert, 2011**).

Parmi les sources animales étudiées récemment, l'escargot se distingue par sa richesse en protéines et en peptides bioactifs aux propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires. Ces caractéristiques lui confèrent un intérêt croissant dans les recherches scientifiques et biotechnologiques (**Eric Daliri et al., 2017**).

➤ Section 2

2. Etymologie du mot «escargot»

Il est probable que le terme espagnol « *caracol* » soit à l'origine du mot français « escargot », celui-ci ayant été introduit en France par le biais de La Rochelle, où des marins espagnols et portugais venaient se réapprovisionner. On peut compléter cette désignation par d'autres termes tels que : « *hélice* » (en raison de la forme de sa coquille) ou « *colimaçon* ». Selon les régions, l'escargot peut avoir différentes appellations. Par exemple, on peut citer « *carago* » (l'escargot de Marseille), « *cantareu* » (l'escargot de Nice), ou encore « *Luma* » (l'escargot de Poitou), entre autres (Bonnet et al., 1990). D'après les mêmes chercheurs, parmi les 400 espèces d'escargots présentes dans leur habitat naturel, seulement six sont sujettes à un commerce considérable : L'escargot Petit-Gris (*Helix aspersa aspersa* ou Müller); L'escargot de Bourgogne (*Helix pomatia*); L'escargot Gros-Gris (*Helix aspersa maxima*); L'escargot Tapadou ou Apatelli (*Helix aperta*); La mourguette (*Eobonia vermiculata*); L'escargot Turc (*Helix lucorum*).

Dans notre étude, nous allons prendre pour modèle l'escargot Petit-Gris: *Helix aspersa*.

2.1 Distribution géographique d'*Helix aspersa* Müller (Petit-Gris)

On le trouve naturellement dans les régions suivantes : le Royaume-Uni, l'Italie, la France et tout au long des frontières de la mer Méditerranée et de la mer Noire. Il est mis en place en Argentine, Australie, Canada, Chili, Haïti, Nouvelle-Zélande, Mexique, Afrique du Sud, États-Unis et les îles de l'Atlantique. (Dekle et Fasulo, 2008).

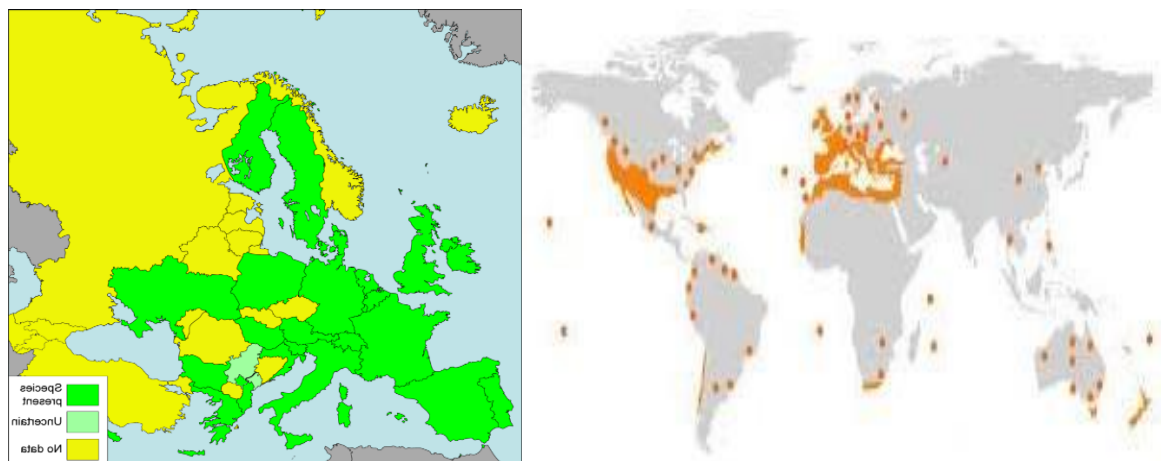


Figure 6 : *Helix aspersa*, espèce d'escargot terrestre pulmoné : présence dans les pays européens; Distribution d'*Helix aspersa* (d'après Madec 1989; Jørgensen & Sørensen 2008 ; Ansart et al. 2009 in Dahirel 2014).

2.1.1 Dans le monde

L'habitat naturel de *Helix aspersa* s'étend sur plusieurs régions du monde, notamment le Royaume-Uni, l'Italie, la France ainsi que les côtes de la Méditerranée et de la mer Noire. Cette espèce a également été introduite dans de nombreux pays tels que l'Argentine, l'Australie, le Canada, le Chili, Haïti, la Nouvelle-Zélande, le Mexique, l'Afrique du Sud et les États-Unis. Sa présence a aussi été signalée sur certaines îles de l'Atlantique (**Dekle & Fasulo, 2008**).

2.1.2 En Algérie

En Algérie, l'escargot est largement réparti dans plusieurs régions du pays, notamment à Chlef, Aïn Defla, Alger, Mostaganem, Tissemsilt, Aïn Témouchent, Mascara, Béjaïa, Annaba, Sétif, Boumerdès, Oran, M'Sila, Blida, Relizane, Biskra, Béchar, Saïda, Batna, Constantine, Tizi Ouzou et Tlemcen (**Sadoud et al., 2024**).

2.2 L'escargot *Helix aspersa*

Parmi les espèces d'escargots les plus ubiquistes figure l'escargot marron de jardin *Helix aspersa* (**Müller, 1774; Bairi, 2020**). *Helix aspersa* Müller est un mollusque gastéropode terrestre (**Murgia et al., 2022**) appartenant à l'ordre des Stylommatophores (**Salmi, 2018**) et à la famille des Helicidae. Il possède un poumon, appelé également cavité palléale, ce qui le classe dans la sous-classe des Pulmonés (**Bairi, 2020**).

Cette espèce est largement répandue dans le bassin méditerranéen, le nord-ouest de l'Europe ainsi que sur la façade atlantique française (**Murgia et al., 2022 ; Salmi, 2018**). Elle est également connue sous plusieurs appellations, notamment *Cornu aspersum*, *Cantareus aspersus* ou encore le petit-gris (**Ameur, 2021**).

L'*Helix aspersa* est une espèce ubiquiste très répandue à travers le monde, parfois considérée comme envahissante. Elle fréquente principalement les zones cultivées, les jardins et les milieux forestiers. Sa durée de vie moyenne en milieu naturel est estimée à environ cinq ans (**Louzon, 2020**).

2.3 Position systématique (Taxonomie) d'*Helix aspersa*

L'escargot est un mollusque gastropode, pulmoné terrestre, sa classification selon

(Otchoumou, 1991) sa position systématique est la suivante :

Helix aspersa (Müller, 1774) est un Mollusque gastropode, pulmoné terrestre, aussi nommé *Cantareus aspersus*, *Cornu aspersum*, *Criptomphalus aspersus* dans la nomenclature récente (Barker, 2001) ou le petit gris.

Selon Bonnet et al., 1990, sa position systématique est la suivante :

<u>Classification</u>	
Règne	<i>Animalia</i>
Embranchement	<i>Mollusca</i>
Classe	<i>Gastropoda</i>
Ordre	<i>Stylommatophora</i>
Sous-ordre	<i>Helicina</i>
Infra-ordre	<i>Helicoidei</i>
Super-famille	<i>Helicoidea</i>
Famille	<i>Helicidae</i>
Genre	<i>Helix</i>



Figure 7: *Helix aspersa* (Escargot petit-gris).

2.4 Anatomie externe d'escargot

Les escargots sont des gastéropodes mollusques présentant une anatomie asymétrique dépourvue d'organes en paire (Stiévenart et al., 1990). On le distingue par une tête dotée de deux séries de tentacules, les plus étendues portant des yeux, par sa vaste sole ventrale (ou pied), par sa coquille en spirale globuleuse dont le sommet dépasse le flanc droit et finalement, par son orifice pulmonaire dorsal (Stiévenart et Hardouin, 1990).

L'escargot comprend en gros deux parties, le corps et la coquille. Le corps d'escargot subdivisé en trois zones, la tête, le pied et les viscères (Cobbinah et al., 2008).

▪ Letégument

D'après Heusser & Dupuy (2010), le tégument est typiquement constitué d'un épiderme simple au-dessus duquel des cellules glandulaires muqueuses sont insérées. Il surmonte un tissu

Conjonctif dans les espaces duquel circule l'hémolymphe, associé dans le pied à d'abondantes fibres musculaires lisses. L'animal se déplace grâce à des contractions de la musculature longitudinale du pied, se propageant sous forme d'ondes.

▪ **Coquille**

Helix aspersa possède une coquille globulaire (hauteur : 25 - 35 mm, diamètre : 25 - 40 mm) avec 5 à 4,5 spires. La coquille avec des lignes de croissance irrégulières est brillante à brun foncé avec jusqu'à cinq ceintures tachetées (**Nicolai, A, 2010**).

Elle est formée d'une seule pièce enroulée en hélice d'un cône très allongé. L'ouverture de la coquille est bordée par le péristome, et le sommet est l'apex.

Selon Heusser & Dupuy (2011), la coquille est typiquement composée de trois couches :

- 1) **Le périostracum externe** est très résistant, de nature organique conchyoline tannée.
- 2) **L'ostracum moyen**, très épais, comportant une couche superficielle de prismes et une couche profonde de lamelles organique formée notamment de conchyoline,
- 3) **L'hypostracum interne**, plus fin, constitué d'une substance porcelanée est produit par toute la surface du manteau.

Elle se compose d'une partie organique (une trame protéique externe : la conchyoline, représentant 1 à 2 % de la coquille) et d'une partie minérale (carbonate de calcium sous forme de calcite et d'aragonite, représentant 98 % de la coquille). Le rôle principal de la coquille est d'assurer la protection du corps en cas de danger.

▪ **Le corps**

Le corps mou de l'escargot est protégé par une coquille formée par le manteau. Il comprend une tête munie d'organes sensoriels et d'une bouche équipée d'une radula, ainsi qu'un pied assurant la locomotion et une masse viscérale contenant les principaux organes. Le système circulatoire est ouvert, baignant les organes dans l'hémocœle, et le manteau délimite une cavité palléale en contact avec l'extérieur, où s'ouvrent les systèmes digestifs, excréteur et reproducteur.

La coquille, caractéristique des Mollusques, est constituée de plusieurs couches (périostracum, ostracum et hypostracum) riches en carbonate de calcium et en matrice organique, ce qui lui confère rigidité, protection et rôle de support musculaire (**S. Heusser & H.-G. Dupuy 2011**).

• **Le pied**

Les gastéropodes se distinguent par la particularité de leur pied (**Anonyme, 2009**). Une masse allongée et musclée (**Kerney & Cameron, 2009**).

CHAPITRE I: GÉNÉRALITÉS SUR LES PEPTIDES BIOACTIFS ET LA CHAIR D'ESCARGOT

Il appuie le corps et permet à l'escargot d'avancer en rampant. Il contient de nombreuses cellules glandulaires muqueuses qui produisent une substance favorisant la lubrification du substrat (André, 1968) et qui sécrète également un mucus de manière constante sur le support, formant ainsi une marque brillante évidente; Deux ouvertures sont localisées dans la partie supérieure du pied, près du bord de la coquille, ce sont l'ouverture respiratoire et l'anus (Bonnet, 1990).

- **La masse viscérale**

La masse viscérale englobe les organes primordiaux. Le manchon allongé, qui est couvert par le manteau à sa partie dorsale avant, subit une torsion de 180°, ce qui fait que la cavité palléale se situe à l'avant de l'animal (Gauer, 2007). Elle renferme les organes respiratoires, circulatoires et reproducteurs (Chevalier, 1982).

- Le pneumostome, ouverture de la cavité palléale permettant la respiration.
- L'anus se trouve sous le pneumostome.
- L'ouverture urinaire: non visible, car trop petite.

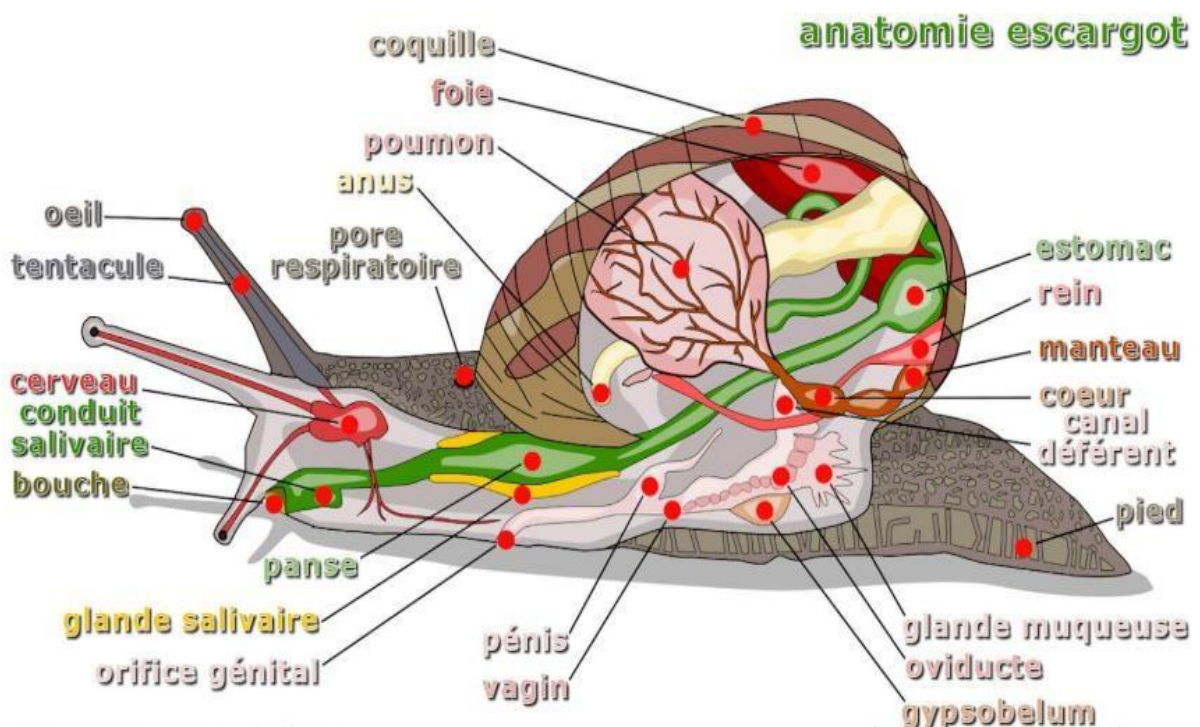


Figure 8: Schéma en coupe de l'anatomie d'un escargot.

2.5 Anatomie interne d'escargot

L'escargot possède un poumon dorsal s'ouvrant vers l'extérieur par le pneumostome (Heusser & Dupuy, 2011).

Le système nerveux est composé d'un système stomo-gastrique et d'un système nerveux central comprenant plusieurs ganglions (Rousslet, 1979). Les organes des sens incluent les tentacules, les yeux et les otocystes (Boue & Chanton, 1978).

L'appareil circulatoire est ouvert et comprend un cœur et deux aortes assurant la distribution du sang (Rousslet, 1979). L'escargot est hermaphrodite avec des organes mâles et femelles impliqués dans la reproduction (Pirame, 2003). Le système excréteur est formé d'un rein unique, appelé organode Bojanus (Poppel & Tribune, 2002). L'appareil digestif comprend la bouche avec mâchoire et radula, un tube digestif complet et un hépatopancréas assurant la digestion et l'absorption des nutriments (Grasse, 1968 ; Heusser & Dupuy, 2010).

2.6 Le cycle biologique de l'escargot

Le cycle biologique de l'escargot s'articule autour de 4 étapes majeures : l'accouplement hermaphrodite, la ponte dans le sol, l'éclosion des jeunes (naissains) et la croissance jusqu'au stade adulte.



Figure 9: Le cycle biologique de l'escargot.

2.7 Croissance de l'escargot

Helix aspersa est un gastéropode hermaphrodite, chaque individu possédant des organes reproducteurs mâles et femelles. Cependant, la reproduction reste sexuée car l'autofécondation n'est pas possible (Druart, 2011).

CHAPITRE I: GÉNÉRALITÉS SUR LES PEPTIDES BIOACTIFS ET LA CHAIR D'ESCARGOT

La reproduction débute par une phase de parade durant laquelle les partenaires se touchent et sécrètent du mucus avant l'accouplement. Celui-ci s'effectue tête-bêche avec échange de spermatozoïdes sous forme de spermatophore et peut durer plusieurs heures (**Aupinel, 1984 ; Pirame, 2003**).

Après la fécondation interne, l'escargot creuse un nid dans le sol humide pour y déposer ses œufs. La ponte peut contenir plusieurs dizaines d'œufs sphériques protégés par une enveloppe calcaire (**Cappuccio, 2011**).

L'incubation dure généralement entre 15 et 30 jours. À l'éclosion, les jeunes escargots possèdent une coquille fine et transparente qui se solidifie progressivement avant leur sortie du nid (**Madec, 1989 ; Pirame, 2003**).

La fécondation se déroule dans une chambre spécialisée appelée chambre de fécondation où se rencontrent les gamètes. Les premières divisions cellulaires commencent rapidement après la fécondation pour assurer le développement embryonnaire (**Raven, 1958 ; Garnault, 1988**).



Figure 10: le cycle de vie de l'escargot *Helix aspersa*.

▪ Composition et intérêt nutritionnel de la chair d'escargot

La chair de *Helix aspersa* désigne la partie comestible du corps de l'escargot, constituée principalement des tissus musculaires et des organes mous protégés par la coquille. Elle représente une source alimentaire riche en protéines, en acides aminés essentiels, en vitamines et en minéraux, tout en étant pauvre en matières grasses et en calories.

Selon **Pissia et al. (2021)**, « la viande d'escargot est très riche en protéines et possède une faible teneur en matières grasses ».

Elle contient également des acides gras bénéfiques, notamment les oméga-3 et oméga-6, ainsi qu'une quantité importante de calcium, phosphore, potassium, magnésium et fer.

La chair d'escargot est considérée comme un aliment fonctionnel à haute valeur nutritionnelle. Sa valeur énergétique est d'environ 67 kcal/100 g, ce qui en fait une alternative saine aux viandes traditionnelles (Toader-Williams & Golubkina, 2009). Elle est largement utilisée dans l'alimentation humaine, particulièrement dans les pays méditerranéens et européens, grâce à ses qualités nutritionnelles et gastronomiques.



Figure 11: La chair d'escargot.

2.8 Physiologie de l'escargot

Les escargots sont des animaux poïkilothermes dont l'activité dépend fortement des conditions climatiques, notamment la température, l'humidité et la photopériode (Bailey, 1981 ; Chevalier, 1982).

Ce sont principalement des animaux nocturnes : durant la journée, ils restent immobiles et cachés afin d'éviter les conditions défavorables, tandis qu'ils deviennent actifs la nuit ou par temps humide. Leur activité se manifeste selon deux rythmes principaux : saisonnier et journalier.

2.7.1 Activité saisonnière

L'activité saisonnière de l'escargot varie selon les conditions environnementales. Lorsque la température devient élevée et que l'humidité diminue, l'escargot entre en estivation. Durant cette période, il se rétracte à l'intérieur de sa coquille et ferme son ouverture grâce à une

membrane appelée épiphragme afin de limiter la perte d'eau (A.T.P.I.A, 2004). Ce phénomène apparaît généralement lorsque la température dépasse 20 °C et que l'humidité relative de l'air devient faible (Bonavita, 1964).

À l'inverse, pendant les périodes froides, l'escargot entre en hibernation. Son activité locomotrice, respiratoire et cardiaque ralentit fortement lorsque la température descend en dessous de 6 °C. Durant cette phase, la croissance et la reproduction cessent jusqu'au retour des conditions favorables au printemps (Damerdjı & Ben Youcef, 2006).

2.7.2 Activité journalière

L'activité journalière de l'escargot est étroitement liée à la photopériode. Pendant la journée, les activités locomotrices, alimentaires et reproductrices sont très limitées à cause de la chaleur et du manque d'humidité. En revanche, durant la nuit, l'escargot profite de la fraîcheur et de l'humidité pour sortir de sa coquille, se déplacer et rechercher sa nourriture. Cette phase active dure généralement quelques heures seulement (Haussy, 2017).

2.8 Composition nutritionnelle et intérêts de l'escargot

Helix aspersa est considéré comme une ressource alimentaire, économique et biologique importante grâce à sa richesse nutritionnelle et à ses nombreuses applications dans les domaines agroalimentaire, médical et cosmétique. Les escargots terrestres présentent également un intérêt pharmacologique, car leurs composés biologiques contribuent à la résistance aux conditions environnementales et servent de modèles biologiques dans plusieurs études scientifiques (Azeem et al., 2022 ; Bairi, 2020).

Tableau 2: Composition nutritionnelle moyenne de la chair d'escargot (pour 100 g de chair crue/nature).

Nutriment	Valeur Moyenne	Intérêt principal
Énergie	75 à 83 kcal	Très faible apport calorique, idéal pour la gestion du poids
Protéines	15 à 16 g	Riches en acides aminés essentiels, comparables à la volaille
Lipides	1 à 1,4 g	Faible teneur en matières grasses, principalement des acides gras insaturés
Glucides	~2 g	Quantité très faible, index glycémique proche de zéro
Eau	75 à 85 %	Taux d'hydratation naturel élevé

2.8.1 Valeur nutritionnelle de la viande d'escargot

La viande d'escargot est consommée depuis la préhistoire et constitue un aliment sain et nutritif. Elle se caractérise par une teneur élevée en protéines de haute valeur biologique, en acides aminés essentiels, en vitamines et en minéraux, tout en étant pauvre en matières grasses et en calories (**Pissia et al., 2021**). Sa teneur en eau atteint environ 70 % (**Adeyeye et al., 2020**), tandis que sa valeur énergétique est estimée à seulement 67 kcal/100 g, ce qui fait de l'escargot un aliment adapté aux régimes riches en protéines et faibles en lipides (**Toader-Williams & Golubkina, 2009**).

Actuellement, la production et la commercialisation de la viande d'escargot terrestre suscitent un grand intérêt. Les escargots sont des animaux invertébrés appartenant à la classe des gastéropodes et à l'embranchement des mollusques (**Brunt et al., 1999**). Un escargot est composé d'un corps mou et d'une coquille. La coquille constitue une enveloppe protectrice composée de carbonate de calcium, tandis que le corps est constitué de protéines (60–70 % sur matière sèche) et d'eau (70 %) (**Adeyeye et Afolabi, 2004**). Chez la plupart des espèces, la coquille représente environ un tiers du poids corporel de l'escargot (**Cobbinah, 1994**).

Selon les connaissances courantes, la viande d'escargot marin possède une teneur élevée en glucides, une faible teneur en matières grasses et une forte teneur en protéines. Elle constitue également une source importante de vitamine E, de phosphore, de potassium, de calcium et de sodium (**Felici et al., 2020 ; Ghosh et al., 2017**). De plus, comme les fruits de mer tels que les moules et les huîtres (**Özyurt et al., 2013**), la viande d'escargot est riche en acides gras polyinsaturés, qui sont des nutriments essentiels. Ainsi, la viande d'escargot représente un aliment riche en protéines et pauvre en matières grasses.

Un kilogramme d'escargots géants destinés à la consommation humaine peut fournir environ un demi-kilogramme d'aliment animal de haute valeur (**Piba et al., 2014**). En effet, la poudre de coquille d'escargot est utilisée comme source de calcium dans l'alimentation des poulets de chair, des poules pondeuses, des petits animaux et du bétail (**Tchakounte et al., 2019**). La coquille peut également être utilisée pour réduire l'acidité des sols dans les cultures agricoles (**Kouakou et al., 2014**).

Les teneurs en protéines varient généralement entre 10,8 % et 25,6 %, selon l'espèce et les conditions d'élevage. Chez *Helix aspersa*, elles peuvent atteindre environ 12,87 %, voire davantage dans certaines régions algériennes (**Pissia et al., 2021 ; Sadoud et al., 2024**).

Les protéines de l'escargot contiennent des acides aminés essentiels tels que la lysine et la phénylalanine, indispensables à la croissance et au bon fonctionnement de l'organisme.

2.8.2 Matières grasses et acides gras bénéfiques

La chair d'escargot possède une faible teneur en matières grasses, estimée entre 0,06 % et 8,46 %, avec environ 0,58 % chez *Helix aspersa* (Pissia et al., 2021). Cette viande contient des acides gras bénéfiques, notamment les oméga-3 et les oméga-6, reconnus pour leurs effets positifs sur la santé cardiovasculaire. Les principaux acides gras identifiés sont l'acide palmitique, l'acide stéarique, l'acide oléique et l'acide linoléique (Çağiltay et al., 2011).

La viande d'escargot présente également une faible teneur en cholestérol comparativement à plusieurs viandes animales, ce qui renforce son intérêt nutritionnel et diététique (Hayes & Mora, 2021).

2.8.3 Vitamines et minéraux

Helix aspersa constitue une excellente source de vitamines essentielles, notamment les vitamines A, E, B1, B2, B3 et B6, qui participent au métabolisme énergétique, au fonctionnement du système immunitaire et à la protection des cellules (Çağiltay et al., 2011).

La chair d'escargot est également riche en minéraux indispensables à l'organisme tels que le calcium, le phosphore, le potassium, le sodium, le magnésium et le fer.

Le calcium représente l'élément le plus abondant, ce qui contribue au maintien de la santé osseuse. De plus, la présence d'orthophosphate de calcium pourrait participer à la prévention de certaines maladies rénales (Adeyeye et al., 2020).

2.8.4 Intérêts économiques et agroalimentaires

Grâce à sa valeur nutritive élevée, *Helix aspersa* possède un intérêt économique important, particulièrement dans les secteurs de l'agroalimentaire, de la cosmétique et de la pharmacie. Son élevage, appelé héliciculture, représente une source de revenus pour de nombreux éleveurs, notamment dans les régions rurales (Benkendorff, 2013).

La demande internationale en viande d'escargot est en constante augmentation, principalement en Europe et en Asie, où elle est appréciée pour sa qualité nutritionnelle et gastronomique (Toleubayev & Seidaliyeva, 2020).

2.8.5 Intérêts médicaux et cosmétiques

Le mucus de *Helix aspersa* est largement utilisé dans les produits cosmétiques grâce à sa richesse en allantoin, collagène, élastine, acide glycolique, vitamines et peptides bioactifs. Ces composés possèdent des propriétés cicatrisantes, régénératrices, hydratantes et antioxydantes (Pascoal *et al.*, 2019).

La bave d'escargot contribue ainsi à la régénération de la peau, à la réduction des rides, au traitement de l'acné et à la protection contre le vieillissement cutané grâce à ses propriétés anti-inflammatoires et antiseptiques (Moncef, 2014).

Partie Expérimentale

Chapitre II: *Matériels et Méthodes*

L'objectif principal de ce travail consiste à extraire les protéines à partir de l'escargot *Helix aspersa* (Petit-gris), les hydrolyser en peptides bioactifs ensuite à explorer l'activité anti-inflammatoire des protéines avant et après hydrolyse enzymatique.

3. Echantillons biologiques

3.1 Site de prélèvements

Les escargots terrestres (*Helix aspersa*) utilisés dans cette étude ont été achetés auprès de vendeurs locaux au marché couvert du centre-ville de Mostaganem, au mois de mars 2026. La préparation et les analyses ont été réalisées au laboratoire de biochimie 1 de l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem.



Figure 12: Les escargots terrestres (*Helix aspersa*) utilisés dans cette étude.

3.2 Protocole expérimentale

3.2.1 Préparation des échantillons

Après leur acquisition, les escargots ont été décoquillés et la chair a été soigneusement séparée des coquilles. Celle-ci a été lavée plusieurs fois à l'eau afin d'éliminer les impuretés et les résidus éventuels. La chair a ensuite été homogénéisée à l'aide d'un broyeur (mixeur) jusqu'à l'obtention d'une pâte uniforme. Cette préparation a été séchée dans une étuve à 45 °C pendant 48 heures. Après séchage, la matière obtenue a été broyée sous forme de poudre et environ 25 g d'échantillon sec ont été récupérés pour les analyses ultérieures.

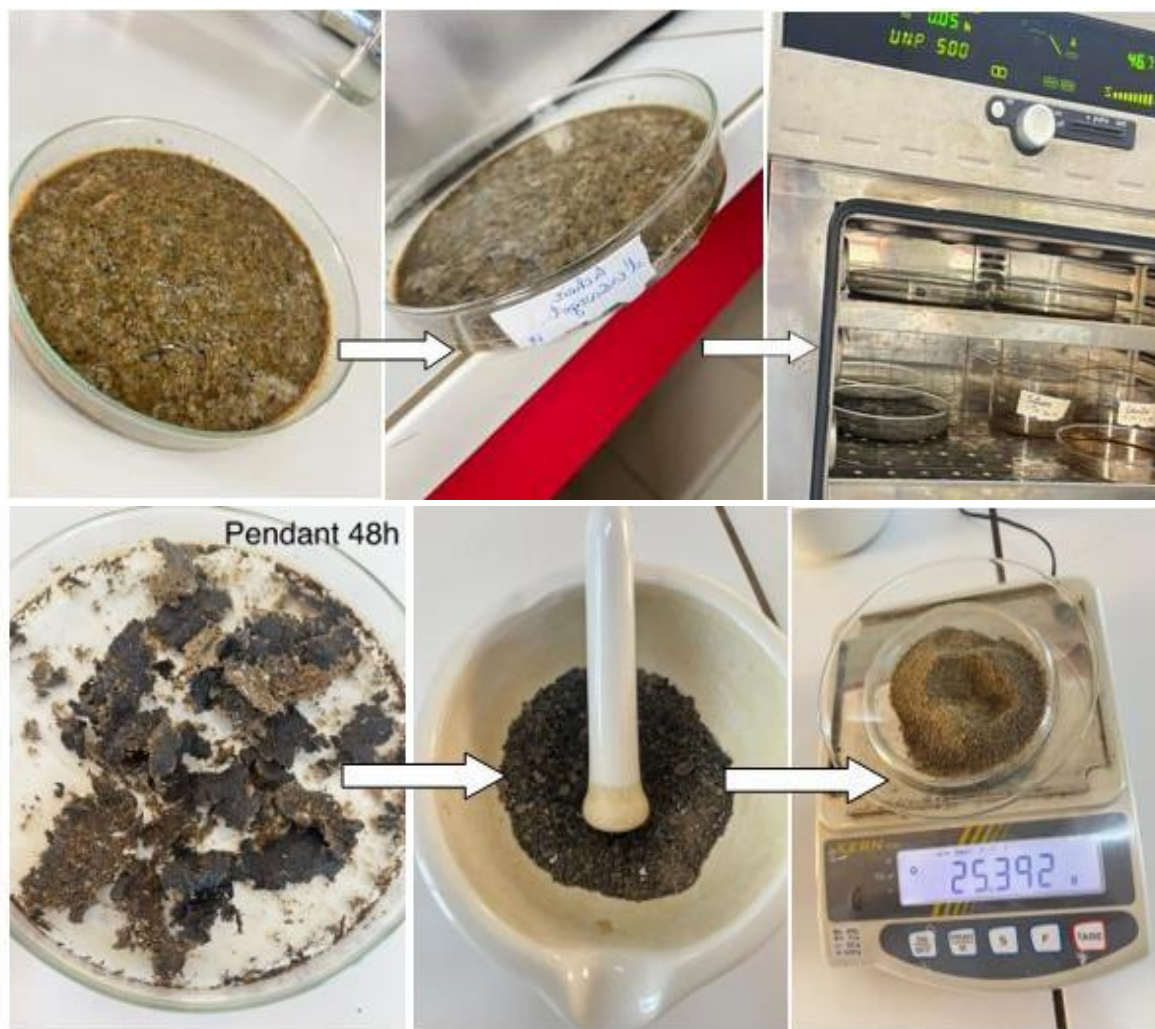


Figure 13:Préparation de l'échantillon (*Helix aspersa*).

3.2.2 Extraction des protéines

L'extraction des protéines a été réalisée à partir de la poudre de chair d'escargot obtenue après séchage. L'échantillon a été mis en suspension dans une solution tampon PBS (Phosphate Buffered Saline) à pH 7,4 afin de favoriser la solubilisation des protéines

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

Mélange soigneusement après chaque ajout afin d'obtenir une solution homogène (Perchetti, G.A.; *etal.*, 2020).

Le pH de la solution a ensuite été contrôlé et ajusté à 7,4 à l'aide d'une solution d'acide chlorhydrique (HCl) ou d'hydroxyde de sodium (NaOH). Enfin, le volume a été complété à 500 mL avec de l'eau distillée. La solution obtenue a été conservée dans un flacon propre et utilisée comme tampon pour les différentes étapes de l'extraction des protéines.

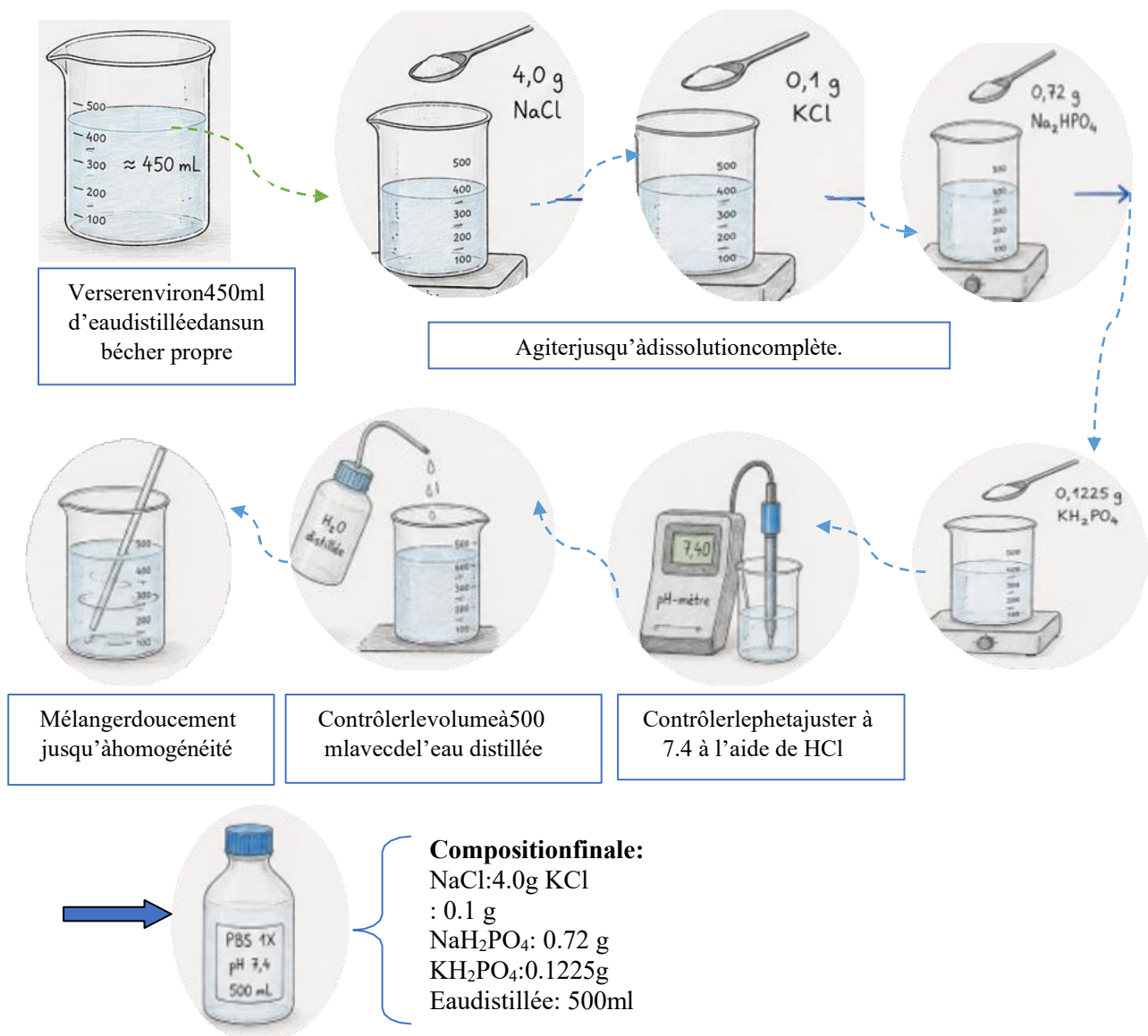
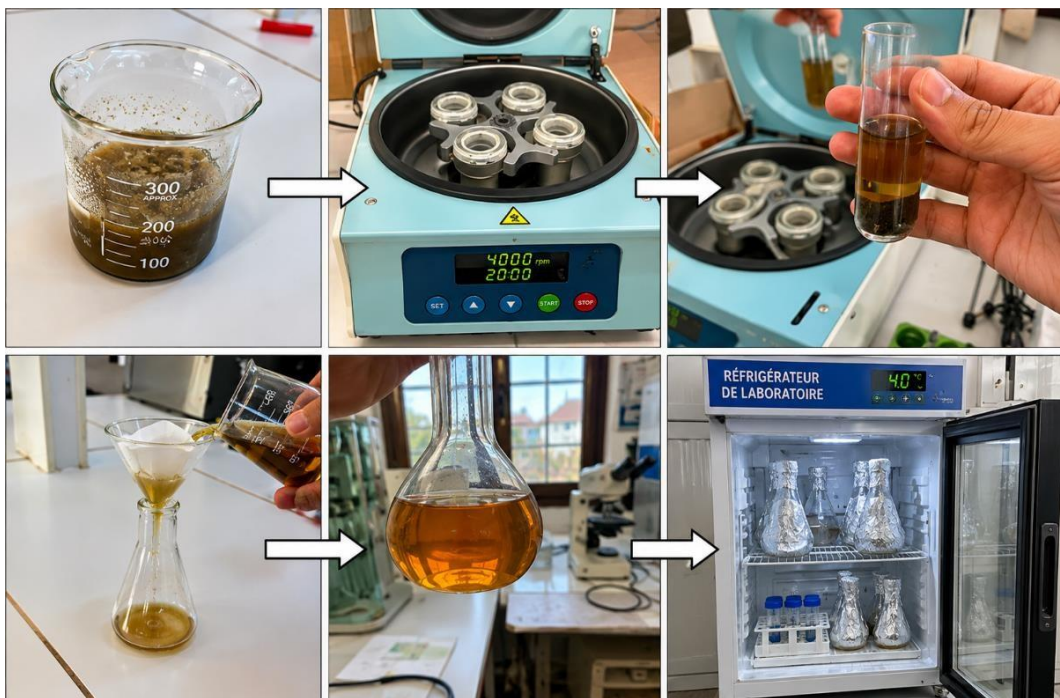


Figure 2: protocole de la Préparation de tampon PBS (Phosphate Buffered Saline).

Après la préparation du tampon PBS (pH 7,4), **25 g** de poudre de chair d'escargot obtenue après séchage ont été pesés puis mélangés à **255 mL de tampon PBS** afin de favoriser la solubilisation des protéines. Le mélange a été homogénéisé avant d'être soumis à **deux** centrifugations successives à 4 000 tours par minute (tr/min), chacune pendant 20 minutes (10 minutes pour chaque cycle de centrifugation).

À l'issue de cette étape, le surnageant correspondant à l'isolat protéique a été récupéré avec précaution et transféré dans une fiole propre. Celle-ci a été recouverte d'une feuille de papier aluminium afin de protéger l'échantillon, puis conservée au réfrigérateur jusqu'à son utilisation.

Figure 14: L'extraction des protéines.



A) Le dosage des protéines par la méthode de Lowry

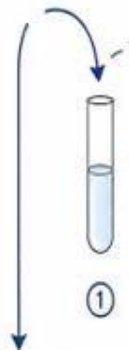
Le dosage des protéines par la méthode de Lowry est une technique colorimétrique largement utilisée pour quantifier la concentration protéique dans un échantillon. Elle repose sur la réaction des protéines avec les ions cuivre en milieu alcalin (réaction de Biuret), suivie de la réduction du réactif de Folin-Ciocalteu par certains acides aminés aromatiques, ce qui entraîne le développement d'une coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de protéines présentes (**Oliver H. Lowry et al., 1951**). Ce procédé est applicable quand la quantité de protéine à déterminer est comprise entre 10 et 100 µg/ml. Cette réduction se traduit par une coloration bleue.

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

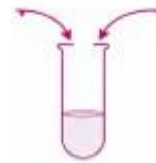
3 solutions A,B,C	
Solution A (Carbonate alcalin)	4g → 100ml Na_2CO_3 : 2% (20g/l) Dissoudre dans NaOH 2.0.1N
Solution B (Sulfate de cuivre)	1g de CuSO_4 + 100 ml $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$: 1% (10g/l)
Solution C (Tartrate de sodium et potassium)	2g + 10 ml Tartrate double : 2% (20g/L)

- 50 mL de solution A
- 0,5 mL de solution B
- 0,5 mL de solution C

**Préparation
de réactif**



+5ml de réactif alcalin de Lowry
+0.5ml de Folin dans chaque tube

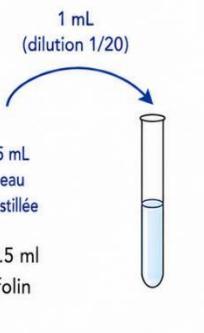
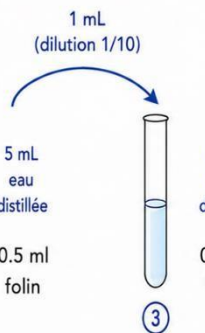
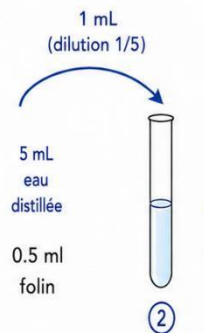
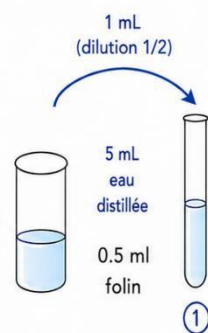


Ajouter dans chaque tube 0.5ml de Folin

**Dilution de l'extrait
(Série de 4 dilutions)**

1ml extrait d'escargot
+
5ml de réactif Lowry
+
0.5ml de Folin diluée

Solution mère
(extrait)



1,028



0,907



0,814



0,755



30 min
À l'obscurité



Figure 15: protocole de dosage des protéines par la méthode de Lowry.

Remarque:Le réactif de Folin est utilisé à température ambiante

- Le dosage des protéines est réalisé selon la méthode de Lowry en utilisant des tubes séparés contenant chacun 1 mL d'extrait d'escargot.
- Des dilutions sont effectuées afin de ramener les concentrations dans la gamme de mesure.
- À chaque tube, on ajoute dans un premier temps 5mLde réactif alcalin de Lowry.
- Le mélange est ensuite homogénéisé puis laissé reposer pendant10 minutes à température ambiante afin de permettre la réaction initiale.
- Ensuite, 0,5 mL de réactif de Folin dilué est ajouté à chaque tube, suivi d'un mélange immédiat pour assurer une bonne homogénéisation.
- Les tubes sont ensuite dilués davantage puis recouverts de papier aluminium afin deles protéger de la lumière.
- Ils sont laissés au repos pendant 30 minutes dans un endroit à l'abri de la lumière, ce qui permet le développement complet de la coloration.
- L'absorbance est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 750 nm (longueur d'onde standard) ou à 660 nm, en utilisant un blanc comme référence le PBS.

Remarque : Cette lecture permet de déterminer la concentration en protéines présentes dans l'extrait.



Figure 16: spectrophotomètre à750nm.

3.2.3 Méthode d'inhibition de la dénaturation protéique

Une série de dilution a été préparée à partir d'une solution mère de 12.5mg de l'échantillon dans 5ml d'eau distillée afin d'obtenir des concentrations de 2.5, 1.2, 0.6, 0.3, 0.15 et 0.05 (mg/ml). Dans des tubes à essais,1 ml de chaque échantillon ont été mélangés avec 100µl de

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

Blanc d'œuf et 1.4 ml PBS d'un pH 6.4. Cette étape a été succédée par l'incubation des tubes à 37°C pendant 15 min et par chauffage au bain marie pendant 5 min à 70°C. Après refroidissement des solutions, la densité optique est mesurée à 660nm. Le diclofénac est considéré dans cette expérience comme test de contrôle (Mirke et al., 2020).

Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition \%} = 100 \times (V_t / V_c - 1)$$

V_t : absorbance d'échantillon

V_c : absorbance du contrôle

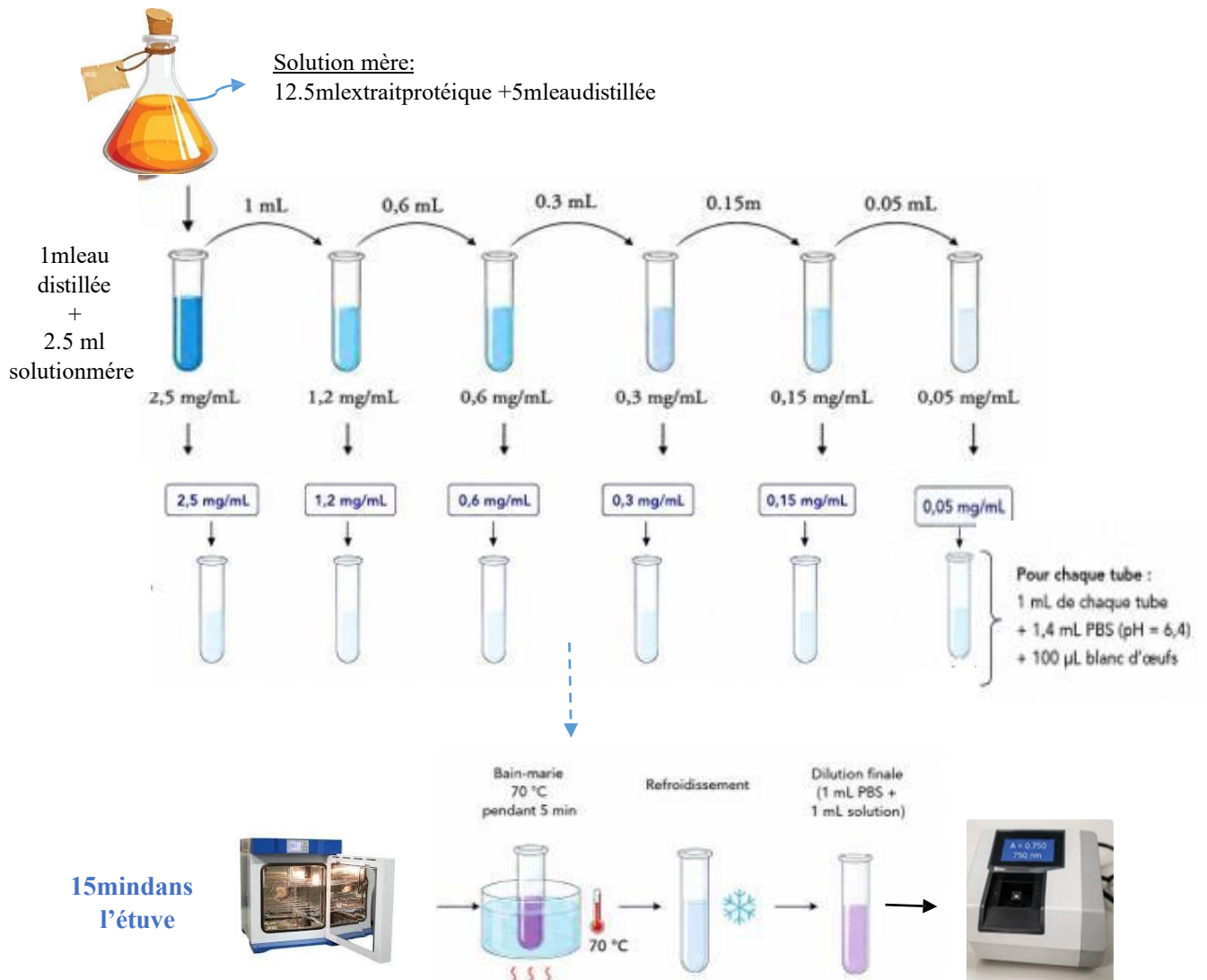
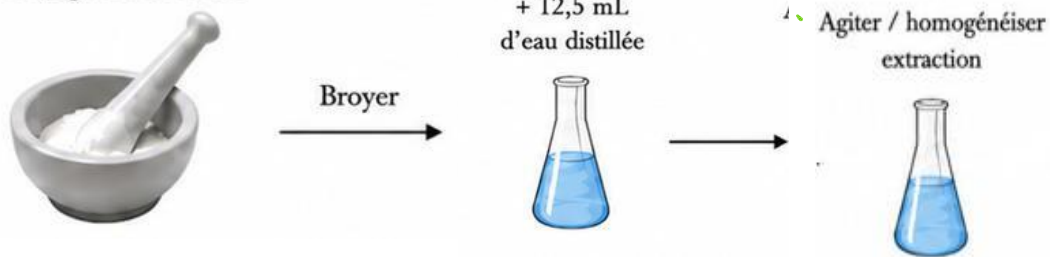


Figure 17: Schéma de préparation des dilutions de l'extrait protéique.

Après la préparation des différentes concentrations de l'extrait protéique, une seconde expérience a été réalisée selon le même protocole de dilution, mais en utilisant le diclofénac comme contrôle positif (référence). Les différents mélanges de dosage ont été préparés à partir de cette solution afin d'évaluer et de comparer son activité anti-inflammatoire avec celle de l'extrait étudié.

1. Préparation de l'extrait de diclofénac

12,5 g de diclofénac



2. Préparation de la solution mère

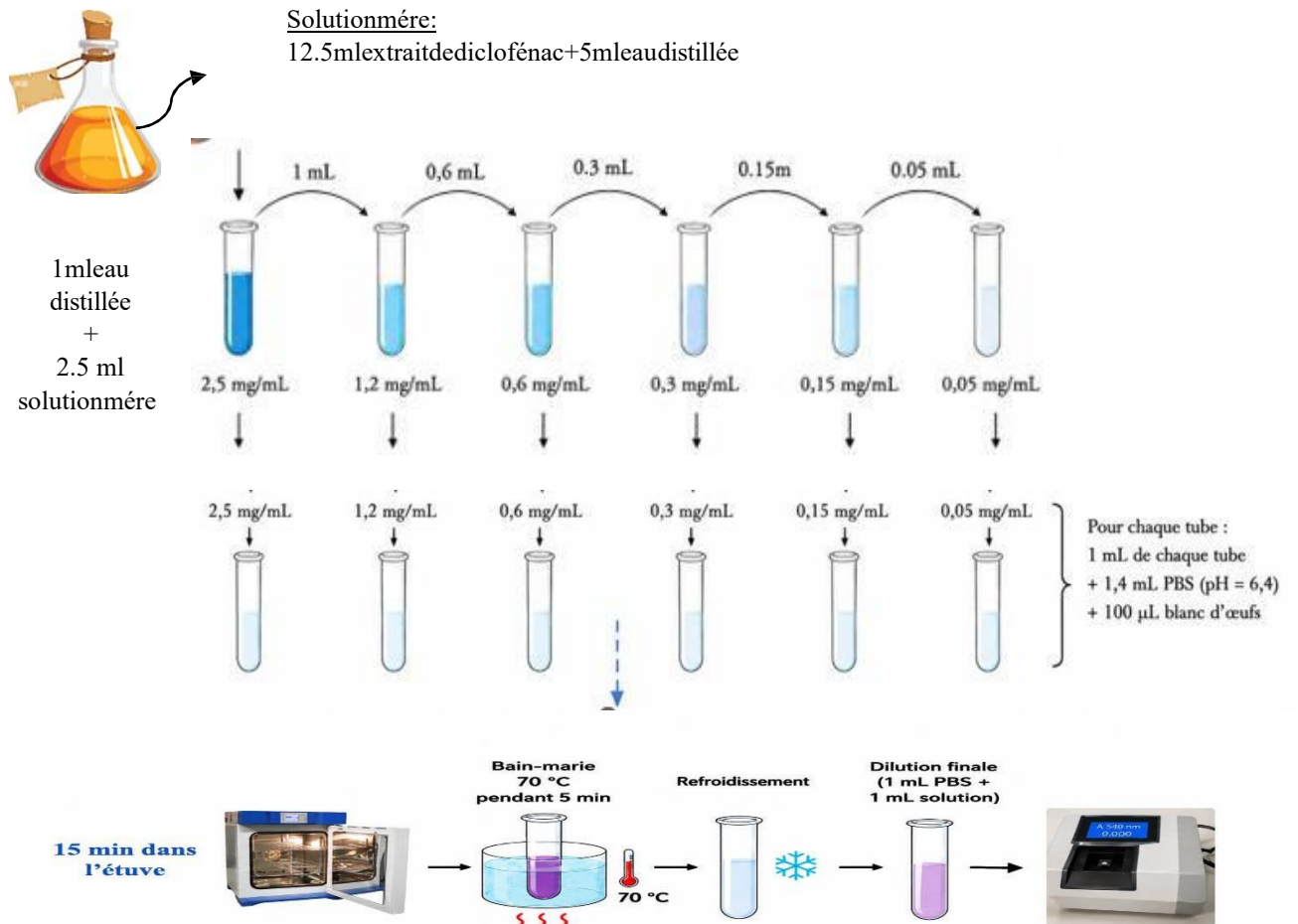


Figure 18: Schéma de préparation des dilutions du mélange de dosage au blanc.

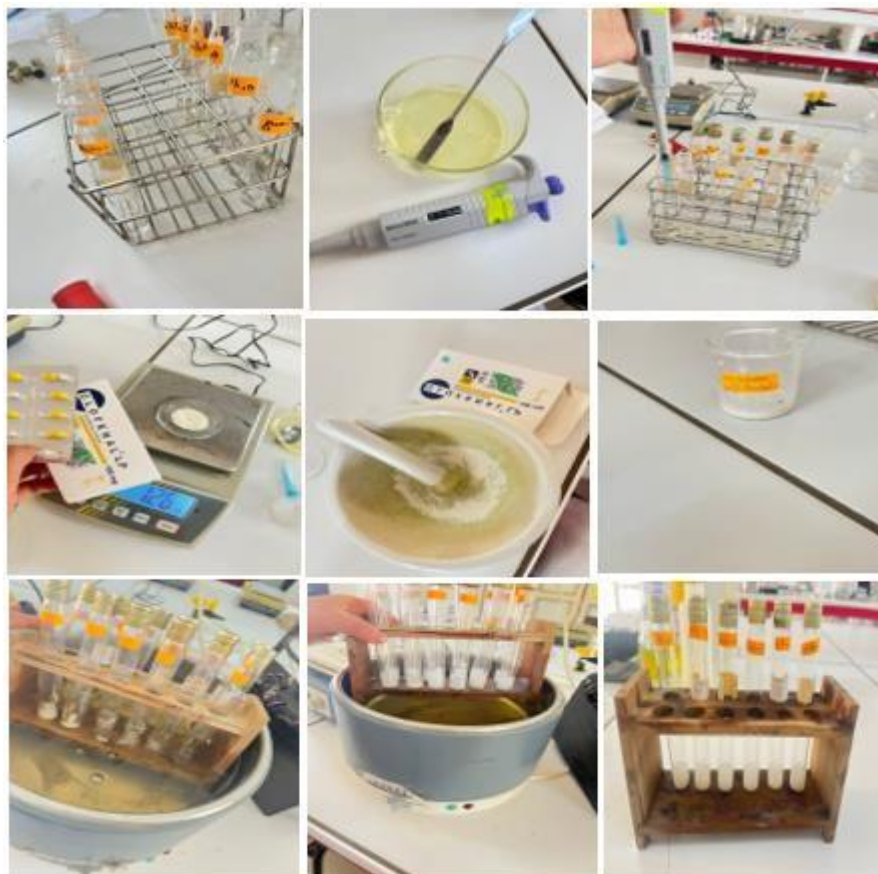


Figure 19: protocole expérimental de préparation des dilutions de l'extrait protéique et du mélange de dosage au blanc.

B) Calcul du pourcentage d'activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire des extraits a été déterminée par la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines. Après incubation et lecture de l'absorbance à 540 nm, le pourcentage d'activité anti-inflammatoire a été calculé à partir des valeurs d'absorbance de l'échantillon (V_t) et du contrôle (V_c) selon la formule suivante :

$$\text{Activité anti-inflammatoire}(\%) = (V_c/V_t - 1) \times 100$$

- **V_t :** absorbance de l'échantillon testé ;
- **V_c :** absorbance du contrôle ;
- **Activité anti-inflammatoire (%) :** pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique.

Cette formule a été appliquée aux différentes concentrations de l'extrait (2,5 ; 1,2 ; 0,6 ; 0,3 et 0,15 mg/mL, 0,05 mg/mL,) afin d'évaluer l'effet anti-inflammatoire en fonction de la concentration.

- **Hydrolyse enzymatique**

L'hydrolyse enzymatique consiste à diviser l'extrait protéique obtenu en plusieurs aliquotes afin de tester l'effet de différentes enzymes protéolytiques.

Chaque fraction est ensuite incubée séparément avec des enzymes spécifiques, notamment la pepsine, afin d'évaluer leur capacité à hydrolyser les protéines.

La réaction est réalisée à pH 2 et à une température de 37 °C pendant 2 heures, dans des conditions optimales pour son activité enzymatique. Après incubation, la réaction enzymatique est arrêtée par ajustement du pH, selon l'enzyme utilisée.

Les mélanges sont ensuite centrifugés afin d'éliminer les résidus solides. Le surnageant obtenu, contenant les peptides bioactifs issus de l'hydrolyse, est soigneusement récupéré pour être utilisé dans les analyses ultérieures.

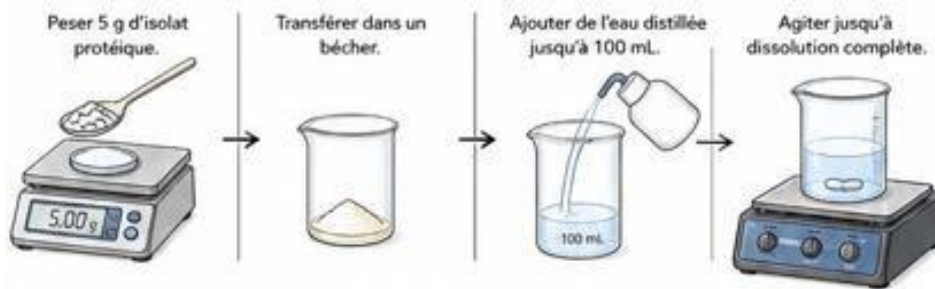
C) Protocole d'hydrolyse enzymatique par la pepsine des protéines de chair

d'escargot La pepsine est une endopeptidase gastrique active en milieu fortement acide (pH 1,5–3). Elle

hydrolyse les liaisons peptidiques des protéines pour produire des peptides de faible masse moléculaire et des hydrolysats protéiques bioactifs.

La température optimale est généralement de 37°C et le pH optimal est d'environ 2,0.

a) Préparation de la solution protéique 5% (w/v).



b) Ajustement du pH



c) Préparation de la pepsine

Préparer une solution fraîche de pepsine dans de l'eau distillée froide.

Ratio enzyme/substrat recommandé

Le rapport classique est:

E/S = 1:100 (w/w)

C'est-à-dire: 1 g de pepsine pour 100 g de protéines. Pour 5 g de protéines :

$$m_{\text{pepsine}} = \frac{5}{100} = 0,05 \text{ g}$$

Donc ajouter:

- 50 mg de pepsine.

Ce ratio est fréquemment utilisé pour les hydrolyses protéiques alimentaires.

d) Hydrolyse enzymatique

Incuber le mélange dans les conditions suivantes :

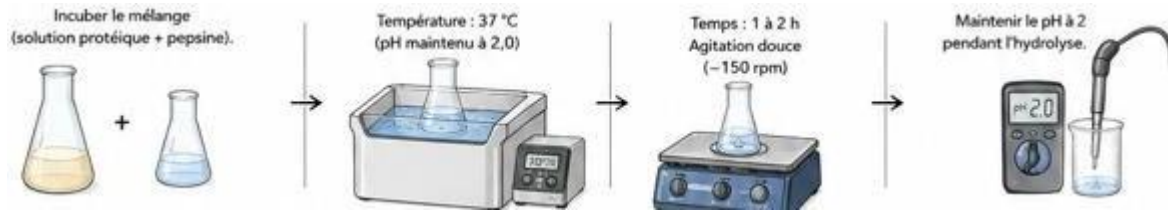
- Température: 37°C
- Temps: 2 heures
- Agitation douce: environ 150 rpm

Maintenir le pH à 2 si nécessaire pendant l'hydrolyse.

Selon plusieurs études, la pepsine présente une activité maximale entre pH 1,5 et 2,5 à 37°C.



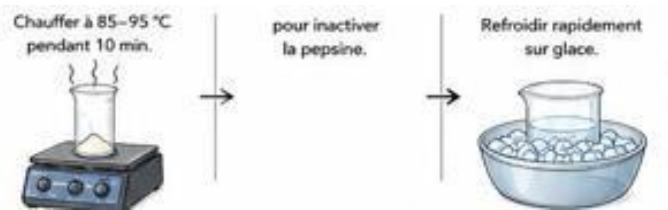
CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES



e) Arrêt de la réaction enzymatique

Après hydrolyse:

Chauffer à 85–95 °C pendant 10 minutes pour inactiver la pepsine. Puis refroidir rapidement sur glace.



f) Centrifugation

Centrifuger à:

- 5000–8000 rpm
- 15–20 minutes
- 4 °C

Récupérer le surnageant contenant les peptides hydrolysés.



g) Conservation

- Court terme : 4 °C
- Long terme : -2

Chapitre III

Résultats et discussion

4. RÉSULTATS ET DISCUSSION

4.1 Dosage des protéines par la méthode de Lowry

La teneur en protéines des extraits de *Helix aspersa* a été déterminée par la méthode de Lowry à l'aide d'une courbe d'étalonnage réalisée avec l'albumine sérique bovine (BSA). Les concentrations calculées à partir de la droite d'étalonnage sont présentées dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Détermination des concentrations en protéines à partir de la courbe d'étalonnage

Échantillon	Absorbance	Concentration (mg/mL)
E1	1,028	1,12
E2	0,907	0,99
E3	0,814	0,89
E4	0,755	0,83

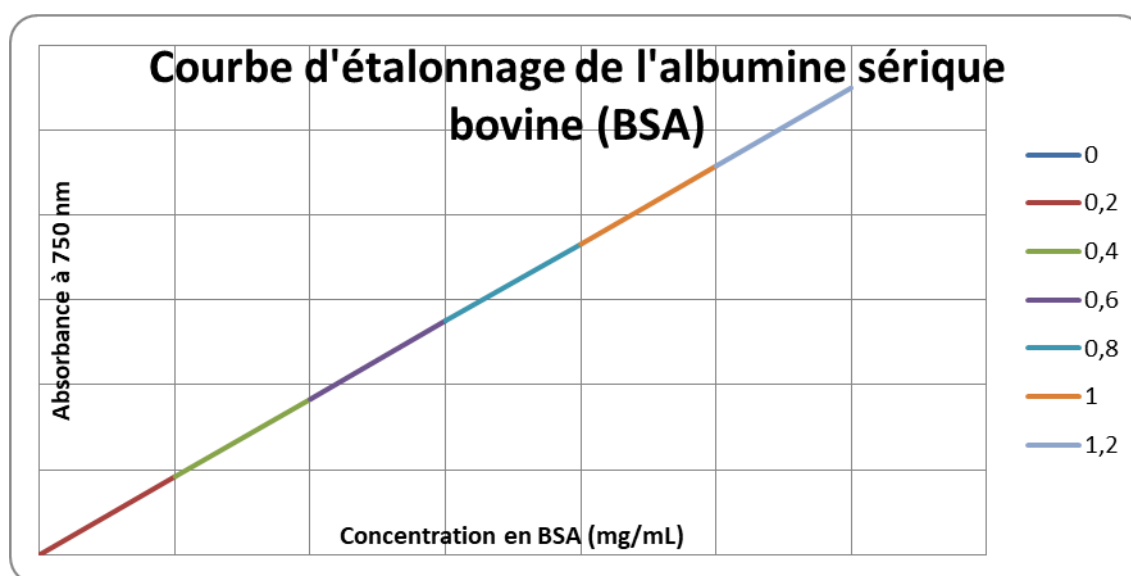


Figure 19 : Courbe d'étalonnage du BSA.

Les résultats montrent que l'échantillon E1 présente la concentration protéique la plus élevée (1,12 mg/mL), tandis que l'échantillon E4 présente la plus faible (0,83 mg/mL). Cette diminution progressive de la concentration protéique traduit probablement une variation de la quantité de protéines extractibles ou une hydrolyse partielle des macromolécules protéiques au cours du traitement enzymatique. En effet, l'action de la pepsine provoque la rupture des liaisons peptidiques, générant des peptides de plus faible masse moléculaire dont la réactivité vis-à-vis du réactif de Lowry peut être légèrement différente de celle des protéines natives.

La méthode de Lowry demeure l'une des techniques colorimétriques les plus sensibles pour le dosage des protéines totales. Elle repose sur la formation d'un complexe cuivre-protéine en milieu alcalin, suivie de la réduction du réactif de Folin-Ciocalteu par certains acides aminés aromatiques, ce qui entraîne l'apparition d'une coloration bleue proportionnelle à la concentration protéique. Les concentrations obtenues dans cette étude sont comparables à celles rapportées pour des extraits protéiques de mollusques terrestres, dont les teneurs varient généralement entre 0,8 et 1,5 mg/mL selon les conditions d'extraction et le protocole analytique.

La légère diminution observée après hydrolyse est cohérente avec les observations de plusieurs auteurs, qui indiquent que l'hydrolyse enzymatique ne réduit pas nécessairement la quantité totale de protéines, mais modifie leur structure en libérant des peptides bioactifs susceptibles de présenter une activité biologique plus élevée, notamment une activité anti-inflammatoire.

Selon le principe de la méthode de Lowry, l'intensité de la coloration bleue est directement proportionnelle à la concentration en protéines ; Le réactif Folin-Ciocalteu réagit avec les groupements tyrosines et tryptophanes pour donner une coloration bleue qui s'ajoute à celle de biuret, et qui est proportionnelle à la quantité de protéines de l'échantillon (**Méthode de Lowry et al., 1951**).

Selon **Fumex, 2019**; la diminution de l'absorbance observée traduit une diminution de la teneur en protéines des échantillons analysés.

Ces résultats sont conformes au principe de la méthode de Lowry, selon lequel la densité optique est directement liée à la quantité de protéines présentes dans l'échantillon.

Les méthodes spectrophotométriques sont utiles pour le dosage des protéines, mais leur fiabilité dépend fortement de l'efficacité de l'extraction préalable. Parmi les protocoles comparés, l'extraction par la méthode de Lowry est révélée nettement plus performante pour les protéines d'origine animale (**Wu, G.Y et al., 2014**).

4.2 Activité anti-inflammatoire: méthode d'inhibition de la dénaturation protéique

Pour évaluer l'activité anti-inflammatoire in vitro de nos extraits, on a utilisé la méthode de l'inhibition de la dénaturation protéique et les résultats ont été comparés à ceux de Diclofénac comme médicament standard. Le diclofénac a été utilisé comme témoin positif (contrôle).

Le diclofénac a été utilisé comme médicament de référence et traité de la même manière pour la détermination de l'absorbance (**Chandra et al., 2012**).

Özoğul et al. (2005) ont rapporté des valeurs similaires chez *Helix pomatia* sauvage collecté dans le sud de la Turquie. Une étude réalisée au Maroc par Aouji et al. (2023) a enregistré la teneur en protéines la plus élevée du genre *Helix* (2,55 %). À l'inverse, Paisantanakij et al. (2018) ont trouvé une faible teneur en lipides (0,38 %) et une teneur en protéines plus élevée (14,07 %).

Les résultats montrent que le Diclofénac assure une bonne inhibition de la dénaturation Protéique, même à faible concentration 0,005 mg/ml (60%) marquant ainsi son effet anti-inflammatoire (Figure 19).

Les résultats montrent que l'extrait protéique exerce un effet protecteur contre la dénaturation protéique très important pour toutes les concentrations utilisées. Cet effet est supérieur de celui du Diclofénac (molécule de référence).

L'écart $\pm$ entre V_t et V_c est maximal à la concentration la plus élevée (2,5 mg/mL), puis diminue progressivement avec les dilutions successives. À partir de 0,15 mg/mL, les valeurs de V_t deviennent très proches de celles du contrôle, ce qui incite que la concentration en protéines approche la limite de détection de la méthode d'inhibition de la dénaturation protéique utilisée.

La diminution progressive de l'absorbance de l'échantillon avec les dilutions successives (2.5 mg/ml ; 1.2 mg/ml ; 0.6 mg/ml ; 0.3 mg/ml ; 0.15 mg/ml ; 0.05 mg/ml) indique que le protocole de dilution a été correctement réalisé.

Le diclofénac, appartenant à la classe des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), est une molécule de référence largement utilisée pour évaluer les propriétés anti-inflammatoires des extraits et des composés bioactifs (Moreno *et al.*, 2009). Dans la présente étude, il a été utilisé comme contrôle positif dans le test de dénaturation protéique.

Les résultats obtenus montrent que le comportement de l'échantillon varie en fonction de la concentration testée. Les concentrations les plus élevées présentent une meilleure capacité à limiter la dénaturation des protéines, tandis que cette capacité diminue progressivement lorsque la concentration diminue.

Cette action peut être attribuée à la présence de peptides bioactifs issus de l'hydrolyse enzymatique des protéines de chair d'escargot.

Selon Rathisre *et al.*, (2013), la méthode de la dénaturation protéique est la plus convenable pour l'évaluation de l'activité anti inflammatoire *in vitro*.

D'après Aidoo et *al.* (2021) ont montré que le bergaptène inhibe la dénaturation de l'albumine de manière concentration-dépendante et présente une activité comparable, voire supérieure dans certains essais, à celle du diclofénac sodium, utilisé comme référence.

De même, une étude sur les protéines et peptides bioactifs de *Rhodomonas* sp. a utilisé le test de dénaturation de l'albumine avec le diclofénac comme contrôle positif et a conclu que les peptides possèdent un potentiel anti-inflammatoire important, attribué à leur capacité à protéger les protéines contre la dénaturation thermique

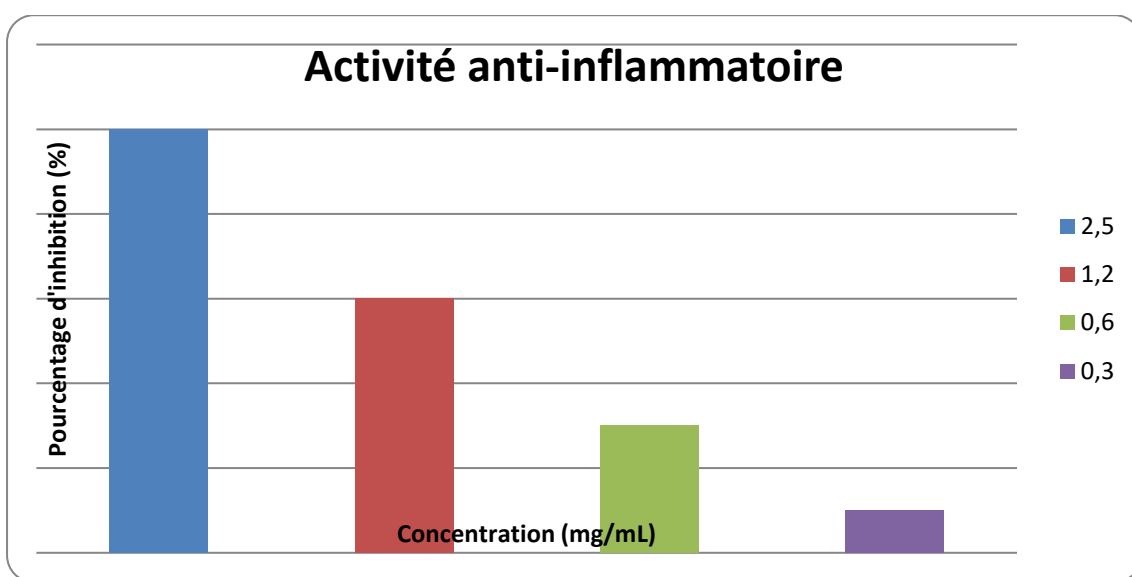


Figure 20: Activité anti-inflammatoire des peptides bioactifs d' *Helix aspersa* muller .

La dénaturation protéique est un phénomène durant lequel la protéine perd sa structure tridimensionnelle ou secondaire, suite à son exposition à la chaleur, à un agent infectieux ou chimique (Adarsh et al., 2011).

L'extrait protéique possède une activité anti-inflammatoire qui augmente avec la concentration. Ce comportement est fréquemment rapporté pour les peptides bioactifs issus de l'hydrolyse enzymatique, dont l'efficacité dépend de leur quantité disponible pour inhiber la dénaturation des protéines.

Les résultats obtenus sont en accord avec ceux rapportés par Naik, Mora et Hayes (2020), qui ont observé des valeurs proches. Dans cette étude, le rendement de l'hydrolysât de protéines d'escargot obtenu après traitement avec l'enzyme protéolytique Alcalase® était de 3,98 g ($\pm 0,275$) à partir de 44 g d'escargot broyé, soit 9,05 % de la matière sèche. Par ailleurs, le rendement en coquilles récupérées après hydrolyse était de 7,98 g ($\pm 0,68$), correspondant à 18,13 % de la matière sèche.

4.3 Hydrolyse enzymatique

Les résultats obtenus après l'hydrolyse enzymatique indiquent que l'enzyme de pepsine a permis une dégradation efficace des protéines présentes dans l'extrait de la chair d'escargot. Cette enzyme protéolytique, active en milieu fortement acide (pH=2), hydrolyse les liaisons peptidiques des protéines présentes dans la chair d'escargot, entraînant la formation de peptides de plus faible masse moléculaire. Cette dégradation témoigne de la richesse protéique de la chair d'escargot et de la susceptibilité des teneurs de ses protéines à l'action des enzymes digestives.

Cette observation est cohérente avec les travaux de Maria Hayes, López N.L et *al.*, 2015 qui soulignent que l'hydrolyse enzymatique des protéines d'escargot permet de générer des peptides bioactifs présentant un intérêt potentiel pour la santé et pouvant exercer diverses activités biologiques et même de Ewelina Zielińska et *al.*, 2013 ont montré que les hydrolysats protéiques obtenus par hydrolyse enzymatique renferment des peptides capables de présenter une activité anti-inflammatoire

Conclusion Générale

Conclusion Générale

L'objectif principal de ce travail était de produire des peptides bioactifs à partir de la chair d'*Helix aspersa* Müller par hydrolyse enzymatique à la pepsine, puis d'évaluer leur activité anti-inflammatoire **in vitro** après extraction et dosage des protéines par la méthode de Lowry.

Les résultats obtenus ont montré que la chair d'*Helix aspersa* constitue une source intéressante de protéines susceptibles d'être valorisées en composés bioactifs. Le dosage des protéines par la méthode de Lowry a permis de mettre en évidence une teneur protéique satisfaisante ainsi qu'une augmentation de la concentration apparente après hydrolyse enzymatique, traduisant la libération de peptides de faible masse moléculaire.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire par le test d'inhibition de la dénaturation des protéines a révélé que les hydrolysats protéiques présentent une activité supérieure à celle des protéines non hydrolysées. Cette amélioration confirme l'efficacité de l'hydrolyse enzymatique dans la libération de peptides possédant un potentiel biologique intéressant. Bien que le diclofénac ait présenté l'activité inhibitrice la plus élevée, les hydrolysats de la chair d'escargot ont démontré une activité anti-inflammatoire prometteuse, soulignant leur intérêt en tant que source naturelle de molécules bioactives.

Ces résultats confirment l'hypothèse selon laquelle la chair d'*Helix aspersa* représente une matière première à forte valeur ajoutée pouvant être exploitée dans le développement d'ingrédients fonctionnels destinés aux secteurs agroalimentaire, nutraceutique et pharmaceutique. La valorisation de cette ressource naturelle pourrait ainsi contribuer au développement de nouveaux produits présentant des effets bénéfiques sur la santé.

Toutefois, cette étude présente certaines limites. L'activité biologique a été évaluée uniquement par un test **in vitro**, et les peptides obtenus n'ont pas été caractérisés individuellement. Par conséquent, des investigations complémentaires sont nécessaires afin d'identifier les séquences peptidiques responsables de l'activité observée et de mieux comprendre leurs mécanismes d'action.

Perspectives

Afin de poursuivre cette recherche, plusieurs perspectives peuvent être envisagées :

- déterminer le degré d'hydrolyse (DH) des protéines obtenues ;
- caractériser les peptides bioactifs par des techniques analytiques telles que la **SDS-PAGE**, la **HPLC** et la **LC-MS/MS** ;
- évaluer d'autres activités biologiques, notamment les activités antioxydante, antimicrobienne et antihypertensive ;
- réaliser des essais **in vivo** afin de confirmer le potentiel thérapeutique des hydrolysats protéiques ;
- étudier la stabilité des peptides au cours de la digestion gastro-intestinale ;
- envisager l'incorporation de ces peptides dans des aliments fonctionnels ou des formulations nutraceutiques.

En conclusion, cette étude met en évidence le potentiel de la chair d'*Helix aspersa* Müller comme source naturelle de peptides bioactifs à activité anti-inflammatoire. Les résultats obtenus constituent une base scientifique encourageante pour de futurs travaux visant la valorisation de cette ressource dans les domaines de la nutrition, de la santé et des biotechnologies alimentaires.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- **Abrashev R, Krumova E, Dolashki A, Kostadinova N, Miteva-Staleva J, Velkova L, Spasova B, Angelova M, Dolashka P, 2018.** Cornu aspersum-derived peptides with biological activity. *Journal of Glycobiol* 7, 108.
- **Adeyeye SAO, Bolaji OT, Abegunde TA, Adesina TO, 2020.** Processing and utilization of Snail meat in alleviating protein malnutrition in Africa : à review. *Nutrition & food science.* 50(6), 1085-1097.
- **Adeyeye, E. ·Afolabi, E.** Amino acid composition of three different types of land snails consumed in Nigeria *Food Chem.* 2004 ; 85(4):535-539.
- **Akbarian M ; Khani A ; Eghbali S ; Uversky VN.** Peptides bioactifs : synthèse, sources, applications et mécanismes d'action proposés. *Int J Mol Sci.* 2022 27 janvier ; 23,3 :1445.
- **Albericio F ; El-Faham A.** Choisir le bon réactif de couplage pour les peptides : un voyage de vingt-cinq ans. *Org. Processus Rés. Dév.* 2018, 22 :760–772.
- **AMEUR N, 2021.** Caractérisation et évaluation des poussières et de leurs impacts sur la bio-écologie des Gastéropodes, dans la région d'Alger (Batna, ALGERIE). Thèse de doctorat : science biologique. Université Mustapha Ben Boulaid-Batna 2. Pp 157.
- **Anand, M.A.V. et al. (2026).** Snail as a multifunctional biological resource: Nutritional value and pharmacological applications. *Food Research International*, 223, 117872.
- **Anand, M.A.V. et al. (2026).** Snail as a multifunctional biological resource : Nutritional value and pharmacological applications. *Food Research International*, 223, 117872.
- **Andersson L; Blomberg L; Flegel M; Lepsa L; Nilsson B; Verlander M.** Synthèse à grande échelle de peptides. *Pep. Sci.* 2000, 55 :227–250.
- **Andersson L; Blomberg L; Flegel M; Lepsa L; Nilsson B; Verlander M.** Synthèse à grande échelle de peptides. *Pep. Sci.* 2000, 55 :227–250.
- **André., 1968.** Zoologie des invertébrés, tome 1, Masson et C, p2-39.
- **Ansart, A., Madec, L. & Guiller, A. (2009)** *Cornu aspersum*. CABI Invasive Species Compendium. URL : <http://www.cabi.org/isc/datasheet/26821>.
- **Antosova Z; Mackova M; Kral V; Macek T.** Application thérapeutique des peptides et des protéines : parentérale pour toujours. *Tendances Biotechnol.* 2009, 27 :628–635.
- **AUPINEL H., 1987.** Effect of short-term vitamin E deficiency on guinea pig skeletal muscle myoglobin. *Am. J. Physiol.* 197:491.

Référencebibliographique

- **Bailey, S.E.R., 1981.** Circannual and circadian rythms in the snail *Helix aspersa* Müller and the photoperiodic control of annual activity and reproduction. *J. Comp. Physiol.*, 142, 89-94.
- **BairiY., Sifi K., Soltani N., 2018** Growth and responses of biomarkers in the snail *Helix aspersa* (Mollusca, Gastropoda) used as bioindicator of soil pollution in Northeast of Algeria. In : Kallel A, Ksibi M, Ben Dhia H, Khélifi N (eds) Recent advances in environmental science from the Euro-Mediterranean and surrounding regions. *Advances in Science, Technology & Innovation*, pp 339–341.
- **Barker,G.M.,ed.,2001.**TheBiologyofTerrestrialMolluscs.CABIPublishing, Oxon
- **Benkendorff, K. (2013).** Natural products in marine molluscs : Chemical diversity and therapeutic applications. *Marine Drugs*, 11(5), 1840–1889.
- **Bhandari D, Rafiq S, Gat Y, Gat P, Waghmare R, Kumar V, 2020.** A Review on Bioactive Peptides : Physiological Functions, Bioavailability and Safety. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics* 26, 139-150.
- **Boman,HG** L'immunitéinnéeetlamicroflore normale. *Immunol.Rév.*2000,173:5–16.
- **Bonnet J.C., Aupinel P. et Vrillons J.L., 1990.** L'escargot *Helix aspersa*, biologie, élevage. Du labo au terrain, INRA, 1-5. Born de sites tunisiens en conditions contrôlées : influence de la photopériode.
- **Boué H. et Chanton R., 1971.** *BiologieAnimale Zoologie I. Invertébrés.* ED Doin, Paris, 542p.
- **Bray BL.** Fabrication à grande échelle de peptides thérapeutiques par synthèse chimique.*Nat. Rev. Drug Discov.* 2003, 2 :587–593.
- **Çağiltay F, Erkan N, Tosun D, Selçuk A, 2011.** AMI NO ACI D, FATTY ACI D, VI TAMINANDMINERALCONTENTSOFTHEEDIBLEGARDENSNAIL(*Helix aspersa*).*J.FisheriesSciences.com*5 (4),354-363.
- **Çağiltay F, Erkan N, Tosun D, Selçuk A, 2011.** AMI NO ACI D, FATTY ACI D, VI TAMINANDMINERALCONTENTSOFTHEEDIBLEGARDENSNAIL(*Helix aspersa*).*J.FisheriesSciences.com*5(4),354-363
- **Chen GW ; Tsai JS ; Pan BS.** Purification des peptides neutralisants de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I et effet antihypertenseur du lait produit par la fermentation lactique facilitée par la protéase. *Int. Lait J.* 2007 ,17 :641–647.
- **Chen W, Ding H, Feng P, Lin H, Chou KC, 2016.** iACP : à sequence-based tool foridentifying anticancer peptides. *Oncotarget* 7 (13), 16895.

Références bibliographiques

- **Chevalier H., 1982.** Facteurs de croissance chez les Gastéropodes Pulmonés terrestres paléarctiques en élevage. Haliotis, 12 : 29-46.
- **Cobbinah J.C; Adri Vink ; Ben Onwuka. 2008.**L'élevage d'escargots : Production, transformation et commercialisation- Agrodok 47. Agromisia Foundation, Wageningen, Première Edition, 82p.
- **Cobbinah, J. R.,Vink,A., and Onwuka, B. (2008).** "L'élevage d'escargots : Production, transformation et commercialisation," Agromisa/CTA.
- **DahirelM.2014.**Déterminantsindividuelsetenvironnementauxdeladispersionchezune espèce hermaphrodite, l'escargot Cornu aspersum. Thèse de doctorat en biologie. Université de Rennes1. 250p
- **Daliri,E.B. M.,Oh, D.H., &Lee,B. H.(2017).**Bioactivepeptides. Foods,6(5), 32.
- **Damerdji. A1 et Ben Youcef. B2. 2006.**Impact des différents facteurs physiques et du rayonnement solaire sur la diversité malacologique dans la région de Tlemcen (Algérie). Revue des Energies Renouvelables Vol. 9 N°4 267 – PP267- 276.
- **Dekle, G. W., & Fasulo, T. R. (2008).** Terrestrial snails (Phylum Mollusca, Class Gastropoda) affecting plants in Florida. University of Florida IFAS Extension.
- **DolashkiA, NissimovaA, Daskalova E,Velkova L,TopalovaY, Hristova P,Traldi P, Voelter W, Dolashka P, 2018.** Structure and antibacterial activity of isolated peptides from the mucus of garden snail Cornu aspersum, Bulgarian Chemical Communications C, 50, 195-200.
- **DolashkiA,VelkovaL,DaskalovaE,ZhelevaN,TopalovaY,AtanasovV,VoelterW, Dolashka P,2020.** Antimicrobial Activities of Different Fractions from Mucus of the Garden Snail Cornu aspersum. Biomedicines 8 (9), 315.
- **Drucker DJ ; Dritselis A ; Kirkpatrick P. Liraglutide.** Revues naturelles. Découverte de médicaments, 2010, 9 4 :267–268.
- **Eric Daliri, Deog Oh et Byong Lee, « Bioactive Peptides », Foods, vol. 6, no 5, 26 avril 2017,p.32(ISSN2304-8158,PMID28445415,PMCIDPMC5447908,DOI 10.3390/foods6050032,lireenligne[archive],consultéle11avril2021).**
- **Felici, A. · Bilandžić, N. · Magi, G.E. ...**Evaluation of long sea snail hinia reticulata (gastropod) from the middle adriatic sea as a possible alternative for human consumption Foods. 2020 ; 9(7) :905.
- **Forbes J ; Krishnamurthy K.** Biochimie, Peptide. Dans : StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing ; 2023 janvier.

Références bibliographiques

- **Gauer M., 2007.** Biologie animale basé sur le cours de 2006/2007 Université Louis Pasteur, Strasbourg.
- **Geng X ; Tian G ; Zhang W ; Zhao Y ; Zhao L ; Wang H.** Tricholoma matsutake peptide avec des activités inhibitrices et antioxydantes de l'enzyme de conversion de l'angiotensine et de ses effets antihypertenseurs chez des rats spontanément hypertendus. *Sci. Rep.* 2016, 6 :24130.
- **Ghosh S., Jung C., Meyer-Rochow V.B.** Snail as mini-livestock: Nutritional potential of farmed *Pomacea canaliculata* (Ampullariidae). *Agric. Nat. Resour.* 2017 ;51 :504–511. doi : 10.1016/j.anres.2017.12.007
- **Grassé, P.P. 1968.** Traite de zoologie : anatomie, systématique, biologie - tome v, fascicule 3 - mollusques gastéropodes et scaphopodes, éd. Masson & Cie (Paris), pp362-370.
- **Guissepi-Elie A; Choi SH ; Geckeler KE.** Traitement par ultrasons des enzymes : effet sur l'activité enzymatique de la glucose oxydase. *J.Mol.Catal.B:Enzyme.* 2009, 58 :118–12
- **Harnedy, P.A., & FitzGerald, R. J. (2012).** Bioactive peptides from marine processing waste and shellfish : A review. *Journal of Functional Foods*, 4(1), 6–24. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2011.09.001>
- **Haussy N., 2017.** L'autonomie familiale simple et rentable, le monde vous appartient ! Le trappeur picard, Paris. Edition : BoD-Books on Demand, 88p.
- **Hayes M, Mora L, 2021.** Alternative Proteins as a Source of Bioactive Peptides : The Edible Snail and Generation of Hydrolysates Containing Peptides with Bioactive Potential for Use as Functional Foods. *Foods* 10 (2), 276.
- **Hayes, M., & Mora, L. (2021).** Alternative Proteins as a Source of Bioactive Peptides: The Edible Snail and Generation of Hydrolysates Containing Peptides with Bioactive Potential for Use as Functional Foods. *Foods*, 10(2), 276.
- **HEUSSER, S., ETDUPUY, H. (2011).** Synthèse de la structure tissulaire à la réalisation des fonctions chez les Gastéropodes Pulmonés (I) Eléments d'histologie et de physiologie des espèces *Helix aspersa* et *Helix pomatia*. 10, 3-25.
- **Jolanta Artymet Michal Zimecki,** «Milk-derived proteins and peptides in clinical trials », *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, vol. 67, 6 août 2013, p. 800–816 (ISSN 1732-2693, DOI 10.5604/17322693.1061635, lire en ligne [archive], consulté le 11 avril 2021).

Référencebibliographique

- **Jørgensen, P.S. & Sørensen, N. (2008):** the invasive potential of the brown garden snail (*Cantareus aspersus*) : à future invasive species in Denmark ? BSc, University of Copenhagen, Copenhagen.
- **Kerney M.P. et Cameron R.A.D., 2009.** Guide des escargots et limaces d'Europe, identification et biologie de plus de 300 espèces. ED De la chaux Nietlé SA. Paris. 370p.
- **Korhonen,H.,&Pihlanto,A.(2006).**Bioactivepeptides:Productionandfunctionality. InternationalDairyJournal,16(9),945-960.
- **Lee SY ; Show PL ; Ling TC ; Chang JS.** Perturbation en une seule étape et récupération des protéines de *Chlorella vulgaris* à l'aide d'ultrasons et de solutions aqueuses tampons liquides ioniques comme solvants extractifs ; Biochemical Engineering Journal, 2017, 124 : 26-35.
- **Lei J, Sun L, Huang S, Zhu C, Li P,He J, Mackey V, Coy DH, He Q, 2019.** Theantimicrobial peptides and their potential clinical applications. Revue américaine de recherche translationnelle 11 (7), 3919.
- **LouzonM,2020.**Développementd'indicateurschimiqueset biologiquespourl'évaluation desrisquesenvironnementauxdessitesetsolscontaminés.ThèsededoctoratBiologiedes organismes, UNIVERSITE BOURGOGNE FRANCHE-COMTE.pp 355.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent., Journal of Biological Chemistry 193(1) :267-275.
- **Madec L, Daguzan J. 1993.**Variation géographique des caractères reproducteurs d'*Helix aspersa* Müller étudiée dans des conditions de laboratoire. Malacologia, 35:99-117.
- **Moncef, Z. (2014).** Etude écophysiological de la reproduction de l'escargot terrestrePetit-Gris (*Helix aspersa*, Gastropoda : Stylommatophora ; Helicidea) dans la régionNord-Est d'Annaba-Algérie. Thèse Doctoral dissertation, Université Badji Mokhtar).
- **Müller, O. F. (1774).** Vermivm terrestrium et fluviatilium, seu animalium infusoriorum, helminthicorum, et testaceorum, non marinorum, succincta historia. Havniae : Heineck &Faber.
- **Murgia G, Loi F, Cappai S, Cogoni MP, 2022.** Entomological Investigation of the MainEntomatic Adversities for Terrestrial Gastropods *Helix aspersa* Müller (Mollusca Gastropoda Pulmonata):APreliminary Study in Sardinian Heliciculture Farms. Insects 13 (7), 660.

Référencebibliographique

- **Nicolai, A. (Bütof). (2010).** The impact of diet treatment on reproduction and thermo Physiological processes in the land snails *Cornu aspersum* and *Helix pomatia*. Thèse de doctorat, Université de Rennes 1 et Universität Bremen.
- **Oliver H. Lowry, Nira J. Rosebrough, A Lewis Farr et Rose J. Randall,** « Protein measurement with the Folin phenol reagent », *J.biol. Chem.*, vol. 193, no1, 1951, p. 265-275.
- **Otchoumou A. 1991.** Contribution à l'étude de l'escargot géantafricain: *Achatina* (Linné) ; Mémoire de DEA n°071; Université Nationale de Côte d'Ivoire, 59 p.
- **Özyurt, G. · Kuley, E. · Etyemez, M.** Comparative seasonal sterol profiles in edible parts of Mediterranean fish and shellfish species *Int. J. Food Sci. Nutr.* 2013; 64(4): 476-483.
- **Pascoal, A., Rodrigues, S., Teixeira, A., Silva, A.M.S., & Pintado, M.E. (2019).** Cosmetic potential of snail mucus: A review. *Cosmetics*, 6(1), 12.
- **Perchetti, G.A.; et al. (2020).** "Stability of SARS-CoV-2 RNA in Phosphate-Buffered Saline". *Journal of Clinical Microbiology*. 58(8): e01094-20. doi:10.1128/JCM.01094-20. PMC 7383534. PMID 32414839
- **Piba, N.S. · Karamoko, M. · Adou, C.F.D** Effet du régime et de la teneur en protéines brutes alimentaires sur le rendement en viande de l'escargot *Achatina fulica* (Bowdich, 1720) *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 2014 ; 8 : 2296-2305.
- **Pirame S.S.L. 2003.** Contribution à l'étude de la pathologie estivale de l'escargot petit gris (*Helix aspersa*) : reproduction expérimentale. Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. Université Paul-Sabatier de Toulouse, 99p.
- **Pissia MA, Matsakidou A, Kiosseoglou V, 2021.** Raw materials from snails for food preparation. *Future Foods* 3, 100034.
- **Pissia, M.A., Matsakidou, A., Paraskevopoulou, A., & Kiosseoglou, V. (2022).** Structural characteristics and physicochemical properties of freeze-dried snail meat. *LWT - Food Science and Technology*, 155, 112980.
- **Popple I. & Tribune M.G., 2002.** Are snails 'Love Darts' Source of Cupid Lore, *National Geographic News*, 63 : 211-243.
- **Rousselet M. 1979.** L'élevage des escargots. Édition du point vétérinaire, Maisons-Alfort, 122 p.
- **Rutherford-Markwick, K.** Les protéines alimentaires comme source de peptides bioactifs aux fonctions diverses. *Journal britannique de la nutrition*, 2012, 108 (S2) : 149-157.

Référencebibliographique

- **Sadoud Meryem, Metlef Sarra. Zidane Azdinia, Afghoul Fatima., Ameer Dahmani Chimaa et RiaziAli (2024).** Enquête sur la consommation de *Helix aspersa* enAlgérie et analysebiochimiqued'échantillonsdedeux régions:ChlefetMostaganem.RevueNature et Technologie, 9.
- **Salas CE ; Badillo-Corona JA ; Ramírez-Sotelo G ; Oliver-Salvador C.** Peptides biologiquement actifs et antimicrobiens de plantes. *BioMed Res. Int.* 2015, 2015, 102129.
- **SalmiA, 2018.** Études de la toxicité d'une pollution mixte de séléniure de Cadmium et de Novaluron sur *Helix aspersa*. Thèse de doctorat: science biologique. Université Laarbi Tebessi Tebessa. pp 140.
- **ShahidiF;ZhongY.**Peptidesbioactifs.*J.AOACInt.*2008,91:914–931.
- **STIEVENART, C., et PRINCE, S., (1990).** "Les escargots géantsafricains," Technical Centre for Agricultural and Rural Cooperation.
- **Tchakounte,F.M.·Kana,J.R.·Azine,P.C.**Effectsofdietarylevelofcalciumon body proportion and nutritional value ofAfrican giant snail (*Archachatina marginata*) *J.Anim. Res.* 2019 ; 3, 020.
- **Toader-Williams A, Golubkina N, 2009.** Investigation upon the edible snails potential assource of selenium for human health and nutrition observing its food chemical contaminant riskfactor with heavy metals. *Bulletin UASVMAgriculture* 66 (2), 495-499.
- **Udenigwe, C. C., & Aluko, R. E. (2012).** Food protein-derived bioactive peptides : Production,processing,andpotentialhealthbenefits.*JournalofFoodScience*,77(1),R11-R24.
- **Zambrowicz A ; Timmer M ; Polanowski A ; Lubec G ; Trziszka T.** Fabrication de peptides présentant une activité biologique.*Acides aminés* 2013 ,44 :315–320.
- **Zou TB, He TP, Li HB,Tang HW, Xia EQ, 2016.** The structure-activity relationship of theantioxidant peptides from natural proteins. *Molecules* 21 (1), 72.

Annexe

ANNEXE

Concentration(mg/mL)	Vt	Vc	Calcul	Écart(%)
2,5	0,90	0,60	$((0,90/0,60-1)\times 100)$	50,0
1,2	0,78	0,60	$((0,78/0,60-1)\times 100)$	30,0
0,6	0,69	0,60	$((0,69/0,60-1)\times 100)$	15,0
0,3	0,63	0,60	$((0,63/0,60-1)\times 100)$	5,0

Annexe2

