



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



THESE DE DOCTORAT LMD 3ème Cycle (Doctorat LMD)

DOMAINE : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Alimentaires

Spécialité : Nutrition et Sciences des Aliments

THEME

**Propriétés et valorisation de l'astaxanthine extrait des
sous-produits de crevettes comme ingrédient fonctionnel**

Présentée par : **Melle REBITA Fatima Zahra**

Devant le jury :

Président :	Pr. Abdelmalek Chaalel	Professeur	Univ. Mostaganem
Directrice de thèse :	Pr. Meriem Mokhtar	Professeur	Univ. Mostaganem
Examineur :	Dr. Bouasria Benbouziane	MCA	Univ. Mostaganem
Examinatrice :	Pr. Mokhtaria Yasmina Boufadi	Professeur	USTHB, Alger
Examinatrice :	Pr. Malika Meziane	Professeur	Univ. Chlef

Année universitaire : 2025/2026

Avant-propos

Je tiens à exprimer ma plus profonde gratitude à Professeur Mokhtar Meriem, directrice de cette thèse, pour la confiance qu'elle m'a accordée et pour son soutien indéfectible tout au long de ce travail. Sa rigueur scientifique, ses conseils précieux, ainsi que sa patience et sa disponibilité, ont constitué une source constante d'inspiration et de motivation. Cette thèse n'aurait pu aboutir sans son encadrement bienveillant, son expertise et la générosité avec laquelle elle a partagé son savoir et son expérience. Je lui adresse mes sincères remerciements pour avoir cru en mes capacités et pour son accompagnement exceptionnel.

Je souhaite également exprimer ma reconnaissance à Professeur Chaalel Abdelmalek, de l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider ce jury. Son expertise et ses remarques pertinentes seront d'une grande aide pour l'enrichissement de ce travail

Mes remerciements vont également à Docteur Benbouziane Bouasria, Maître de Conférences à l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, pour avoir accepté d'examiner ce travail et pour ses remarques constructives, qui seront précieuses pour l'amélioration de cette thèse.

Je tiens à remercier chaleureusement Professeur Boufadi Mokhtaria Yasmina, de l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene (USTHB) d'Alger, pour l'honneur qu'elle m'a fait d'avoir accepté de juger cette thèse. Sa contribution scientifique et ses observations seront d'une grande valeur pour l'évaluation de ce travail.

Je souhaite également adresser mes remerciements à Professeur Meziane Malika de l'Université de Chlef, pour avoir accepté d'examiner ce travail et d'y apporter son expertise scientifique. Sa participation au jury enrichira l'évaluation de cette thèse.

Je tiens également à exprimer ma gratitude à la Direction de la Pêche et des Ressources Halieutiques de Mostaganem, et en particulier à Monsieur le Directeur Zenasni Hafid et Monsieur Kallel Miloud, pour leur accueil chaleureux, leur disponibilité et les facilités qu'ils m'ont offertes durant la réalisation de mes travaux expérimentaux. Je remercie également le Laboratoire de Bioéconomie, Sécurité Alimentaire et Santé, ainsi que l'équipe du Laboratoire de Biochimie de l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, pour leur disponibilité et leur aide précieuse tout au long de mes recherches.

Dédicace

À mes chers parents,

Je vous dédie cette thèse avec toute ma reconnaissance et mon affection. Merci pour votre soutien inconditionnel, vos encouragements constants et vos innombrables sacrifices tout au long de mon parcours.

Ce travail est avant tout le fruit de votre amour, de votre patience et de votre confiance. Vous avez toujours cru en moi, même lorsque moi je doutais.

À ma famille, pour leur présence réconfortante, leur compréhension et leurs encouragements dans les moments les plus difficiles.

À tous ceux qui, de près ou de loin, m'ont accompagnée, soutenue et inspirée au cours de cette aventure : amis, collègues et êtres chers, je vous exprime ma profonde gratitude.

Ce travail vous est dédié, avec tout mon cœur.

Fatima

Résumé

L'objectif de ce travail est d'évaluer les propriétés biologiques de l'astaxanthine extraite des sous-produits de la crevette rouge *Aristeus antennatus* et de valoriser cette molécule comme ingrédient fonctionnel dans l'alimentation du tilapia rouge (*Oreochromis* sp.). Deux méthodes d'extraction ont été développées : l'une utilisant des solvants GRAS et l'autre reposant sur l'utilisation d'huiles végétales. Après optimisation des paramètres d'extraction, le rendement le plus élevé en astaxanthine ($1346.38 \pm 22.71 \mu\text{g/g}$) a été obtenu avec un rapport solide/solvant de 1:20 d'acétone à 30 °C pendant 60 minutes. L'activité antioxydante de l'extrait d'astaxanthine, évaluée à l'aide des tests DPPH et PFRAP, s'est révélée supérieure à celle de l'acide ascorbique. Par ailleurs, l'activité anti-inflammatoire *in vitro* a été étudiée à travers le test de dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA) et celui de la stabilisation de la membrane des érythrocytes (HRBC). L'astaxanthine a montré une inhibition dose-dépendante, atteignant 64 % à la concentration de 250 $\mu\text{g/mL}$, contre 80 % pour le diclofénac. Le test HRBC a confirmé cet effet protecteur. L'étude de docking moléculaire *in silico* a mis en évidence une forte affinité de liaison de l'astaxanthine avec la sous-unité p50/p65 du facteur de transcription NF- κ B (-7.9 kcal/mol) ainsi qu'avec l'enzyme cyclooxygénase-2 (COX-2) (-10.4 kcal/mol). En outre, l'astaxanthine a présenté une activité antimicrobienne modérée, avec des concentrations minimales inhibitrices (CMI) comprises entre 25 et 1500 $\mu\text{g/mL}$, *Staphylococcus aureus* étant la souche la plus sensible. L'incorporation de l'astaxanthine dans l'alimentation du tilapia rouge pendant une période de deux mois a entraîné une amélioration significative de la pigmentation avec une teneur de $509.34 \pm 12.76 \mu\text{g/g}$ de caroténoïdes totaux. Les performances de croissance ont également été améliorées, avec un poids de $35.34 \pm 1.12 \text{ g}$ et une longueur de $12.7 \pm 0.55 \text{ cm}$. À la fin de l'expérimentation, les tilapias ont présenté une composition nutritionnelle améliorée, caractérisée par des teneurs élevées en protéines ($39.71 \pm 1.06 \%$) et en sucres ($2.69 \pm 0.04\%$), et une faible teneur en lipides ($6.77 \pm 0.13\%$).

Mots-clés : Astaxanthine ; *Aristeus antennatus* ; Sous-produits de crevettes ; Extraction ; Activités biologiques ; *Oreochromis* sp.

Abstract

The objective of this study was to evaluate the biological properties of astaxanthin extracted from red shrimp (*Aristeus antennatus*) by-products and to valorize this molecule as a functional ingredient in the diet of red tilapia (*Oreochromis* sp.). Two extraction methods were developed: one based on the use of GRAS solvents and the other relying on vegetable oils. After optimization of the extraction parameters, the highest astaxanthin yield (1346.38 ± 22.71 $\mu\text{g/g}$) was obtained using acetone with a solid-to-solvent ratio of 1:20 at 30 °C for 60 minutes. The antioxidant activity of the astaxanthin extract, evaluated using DPPH and PFRAP assays, was found to be higher than that of ascorbic acid. In addition, the *in vitro* anti-inflammatory activity was assessed using the bovine serum albumin (BSA) denaturation assay and the human red blood cell (HRBC) membrane stabilization test. Astaxanthin exhibited a dose-dependent inhibition, reaching 64% at a concentration of 250 $\mu\text{g/mL}$, compared with 80% for diclofenac. The HRBC assay confirmed this protective effect. *Molecular docking* studies revealed a strong binding affinity of astaxanthin toward the p50/p65 subunit of the NF- κ B transcription factor (-7.9 kcal/mol) as well as toward cyclooxygenase-2 (COX-2) (-10.4 kcal/mol). Moreover, astaxanthin showed moderate antimicrobial activity, with minimum inhibitory concentrations (MICs) ranging from 25 to 1500 $\mu\text{g/mL}$, *Staphylococcus aureus* being the most sensitive strain. The incorporation of astaxanthin into the diet of red tilapia for a period of two months resulted in a significant improvement in pigmentation, with a total carotenoid content of 509.34 ± 12.76 $\mu\text{g/g}$. Growth performance was also enhanced, with a final body weight of 35.34 ± 1.12 g and a total length of 12.7 ± 0.55 cm. At the end of the experiment, tilapia exhibited an improved nutritional composition, characterized by a high protein ($39.71 \pm 1.06\%$) and polysaccharides levels ($2.69 \pm 0.04\%$) and low lipid content ($6.77 \pm 0.13\%$),

Keywords: Astaxanthin; *Aristeus antennatus*; Shrimp by-products; Extraction; Biological activities; *Oreochromis* sp.

الملخص

يهدف هذا العمل إلى تقييم الخصائص البيولوجية لمركّب الأستازانثين المستخلص من المنتجات الثانوية للروبيان الأحمر *Aristeus antennatus*، وتتمين هذه الجزيئة بوصفها مكوّنًا غذائيًا وظيفيًا في النظام الغذائي لأسماك البلطي الأحمر (*Oreochromis sp.*). تم تطوير طريقتين للاستخلاص، الأولى تعتمد على مذيبات مصنّفة ضمن المواد الآمنة عمومًا (GRAS)، والثانية تعتمد على الزيوت النباتية. بعد تحسين شروط الاستخلاص، تم الحصول على أعلى مردود من الأستازانثين (22.71 ± 1346.38 ميكروغرام/غرام) باستخدام الأسيتون بنسبة صلب/مذيب قدرها 1:20، عند درجة حرارة 30 °م ولمدة 60 دقيقة. وقد أظهرت الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلص الأستازانثين، والمقيّمة باستخدام اختباري DPPH وFRAP، تفوقًا ملحوظًا مقارنة بحمض الأسكوربيك. كما تم تقييم النشاط المضاد للالتهاب في المختبر باستخدام اختبار نزع طبيعة ألبومين مصل الأبقار (BSA) واختبار تثبيط غشاء كريات الدم الحمراء (HRBC)، حيث أظهر الأستازانثين تثبيطًا معتمدًا على الجرعة بلغ 64% عند تركيز 250 ميكروغرام/مل مقارنةً بـ 80% لدواء الديكلوفيناك، كما أُكّد اختبار HRBC هذا التأثير الوقائي. وأظهرت دراسة الالتحام الجزيئي الحاسوبي (*in silico*) وجود ألفة ارتباط قوية بين الأستازانثين وتحت الوحدة p50/p65 لعامل النسخ NF-κB (−7.9 كيلو كالوري/مول)، وكذلك مع إنزيم السيكلوأكسجيناز-2 (COX-2) بقيمة طاقة ارتباط بلغت −10.4 كيلو كالوري/مول. إضافةً إلى ذلك، أظهر الأستازانثين نشاطًا مضادًا للميكروبات بدرجة متوسطة، حيث تراوحت التراكيز الدنيا المثبّطة (CMI) بين 25 و1500 ميكروغرام/مل، وكانت بكتيريا *Staphylococcus aureus* الأكثر حساسية. وأدّى إدماج الأستازانثين في النظام الغذائي لأسماك البلطي الأحمر لمدة شهرين إلى تحسّن ملحوظ في التصبغ، إذ بلغت كمية الكاروتينات الكلية 509.34 ± 12.76 ميكروغرام/غرام، كما تحسّنت مؤشرات النمو، حيث بلغ الوزن المتوسط 35.34 ± 1.12 غ والطول المتوسط 12.7 ± 0.55 سم، وفي نهاية التجربة أظهرت أسماك البلطي تركيبًا غذائيًا محسّنًا تميّز بارتفاع محتوى البروتينات ($39.71 \pm 1.06\%$)، وانخفاض محتوى الدهون ($6.77 \pm 0.13\%$)، مع نسبة منخفضة من السكريات ($2.69 \pm 0.04\%$).

الكلمات المفتاحية: الأستازانثين؛ *Aristeus antennatus*؛ المنتجات الثانوية للروبيان؛ الاستخلاص؛ الأنشطة البيولوجية؛ *Oreochromis sp.*

Liste des tableaux

Tableau 1 : Composition nutritionnelle des crevettes rouges <i>Aristeus antennatus</i> (Rosa et Nunes, 2004)	8
Tableau 2 : Les différents produits à haute valeur ajoutée issus de coproduits de crevette et leur utilisation (Randriamahatody, 2011)	10
Tableau 3 : Composition de l'alimentation de référence (DADA- FISH)	52
Tableau 4 : Caractérisation chimique (%) des sous-produits de la crevette rouge (<i>Aristeus antennatus</i>).....	55
Tableau 5 : Identification et quantification des sucres issus des coproduits des crevettes rouges (<i>A. antennatus</i>) par HPLC-RID.....	58
Tableau 6 : Composition des acides gras des sous-produits de la crevette rouge " <i>A. antennatus</i> " % (g/100 g de EMAGs).....	60
Tableau 7 : Concentration des éléments traces métalliques dans les sous-produits de crevettes rouges « <i>A. antennatus</i> ».....	64
Tableau 8 : Rendement d'astaxanthine obtenu avec différents solvants organiques (µg/g de déchets de crevettes).....	66
Tableau 9 : Rendement d'astaxanthine obtenu avec différents huiles végétales (µg/g de déchets de crevettes).....	70
Tableau 10 : Contenu en astaxanthine dans les déchets de crevettes au cours des différentes saisons.....	75
Tableau 11 : Identification et quantification des isomères d'astaxanthine issus des sous-produits de crevettes (<i>A. antennatus</i>) par HPLC-DAD-APCI-MS dans les déchets.....	79
Tableau 12 : Concentrations minimales inhibitrices de l'astaxanthine issue des sous-produits de la crevette rouge <i>A. antennatus</i>	84
Tableau 13 : Paramètres clés des poches de liaison identifiées.....	93
Tableau 14 : Propriétés pharmacocinétiques de l'astaxanthine.....	96
Tableau 15 : Comparaison de la spécificité moléculaire.....	96

Liste des figures

Figure 1 : Crevette bleu-rouge <i>Aristeus antennatus</i> (Risso, 1816) (García-Rodríguez, 2003)..3	3
Figure 2 : Répartition géographique d' <i>A. antennatus</i> (Kapis, 2012)..... 4	4
Figure 3 : Anatomie externe d' <i>Aristeus antennatus</i> (Quero et Vayne, 2001).....6	6
Figure 4 : Composés précieux dérivés des sous-produits de la transformation des crustacés (De Aguiar Saldanha Pinheiro et al., 2021).....11	11
Figure 5 : Différents produits développés à partir des sous-produits de crevettes (Abuzar et al., 2023)12	12
Figure 6 : structure de la molécule d'astaxanthine (Ambati et al., 2014).....16	16
Figure 7 : Accumulation de l'astaxanthine par <i>Haematococcus pluvialis</i> (Nakano et Wiegertjes, 2020)20	20
Figure 8 : Orientation transmembranaire de l'astaxanthine, β -carotène, vitamine C et vitamine E (Patil et al., 2022)25	25
Figure 9 : Tilapia rouge (<i>Oreochromis</i> sp.) (Nicholson et al., 2018).....33	33
Figure 10 : Répartition géographique du tilapia au monde (El-Sayed et Fitzsimmons, 2023)..34	34
Figure 11 : Sous-produits de crevettes rouges36	36
Figure 12 : Farine des sous-produits de crevettes36	36
Figure 13 : Elevage expérimental du tilapia rouge (<i>Oreochromis</i> sp)51	51
Figure 14 : Alimentation enrichie en astaxanthine à (A) 5% et (B) 10%52	52
Figure 15 : chromatogramme des sucres des co-produits des crevettes rouges (<i>A. antennatus</i>) par HPLC-RID. 1 : Fructose, 2 : Glucose, 3 : Ribose57	57
Figure 16 : Influence du rapport solide-liquide sur le rendement d'extraction de l'astaxanthine avec l'acétone.....67	67
Figure 17 : Influence de la température sur le rendement d'extraction de l'astaxanthine avec l'acétone.....68	68
Figure 18 : Effet de la durée d'extraction sur le rendement d'extraction de l'astaxanthine avec l'acétone.....69	69
Figure 19 : Effet du rapport solide-liquide sur le rendement d'extraction de l'astaxanthine avec l'huile de tournesol72	72
Figure 20 : Effet de la température sur le rendement d'extraction de l'astaxanthine avec l'huile de tournesol73	73

Figure 21 : Effet de la durée d'extraction sur le rendement d'extraction de l'astaxanthine avec l'huile de tournesol	74
Figure 22 : Effet du traitement thermique sur la stabilité de l'astaxanthine	77
Figure 23 : Identification des isomères d'astaxanthine issus des sous-produits de crevettes (<i>A. antennatus</i>) par HPLC-DAD-APCI-MS.....	78
Figure 24 : Activité antiradicalaire de l'astaxanthine par piégeage du radical libre DPPH...81	
Figure 25 : Pouvoir réducteur du ferricyanure de potassium par l'astaxanthine.....82	
Figure 26 : Courbes dose-réponse de l'inhibition de la dénaturation de l'albumine par l'astaxanthine et le diclofénac.....86	
Figure 27 : Inhibition d'hémolyse des globules rouges par l'astaxanthine et le diclofénac.....88	
Figure 28 : Représentation de la surface et sélectivité de la poche C4 dans l'interaction NF- κ B – Astaxanthine	89
Figure 29 : Liaisons hydrogène entre l'astaxanthine et les résidus du site de liaison	92
Figure 30 : Interactions tridimensionnelles au sein du site de liaison C1 de la COX-2.....94	
Figure 31 : Développement de la croissance des tilapias rouges sous différents régimes alimentaires, (A) : poids (g), (B) : taille (cm).....98	
Figure 32 : Effet des différents régimes alimentaires sur les caroténoïdes totaux des tilapias rouges.101	
Figure 33 : Effet des différents régimes alimentaires sur la coloration des tilapias après 2 mois d'élevage.....103	
Figure 34 : Teneur en matière sèche des tilapias sous différent régimes alimentaires.....105	
Figure 35: Teneur en cendres des tilapias sous différent régimes alimentaires... ..106	
Figure 36: Teneur en protéines des tilapias sous différents régimes alimentaires.109	
Figure 37: Teneur en lipides des tilapias sous différents régimes alimentaires.....110	
Figure 38: Teneurs en glucides des tilapias sous différents régimes alimentaires.....112	

Liste des abréviations

% : Pourcent

Å : Ångström

A10 : Alimentation de référence additionnée de 10% d'astaxanthine

A5 : Alimentation de référence additionnée de 5% d'astaxanthine

ADN : Acide désoxyribonucléique

AGPI : Acides gras polyinsaturés

AOAC : Association of Official Analytical Chemists **APCI**: Atmospheric pressure chemical ionization **ASX** : Astaxanthine

BHT: Hydroxytoluène butylé

BSA: Bovine Serum Albumin

C°: Degré Celsius

CaCO₃ : Carbonate de calcium

Cd : Cadmium

CI₅₀: Concentration inhibitrice 50

Cm : Centimètre

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

COX : Cyclo-oxygenase

Cu : Cuivre

DAD: Diode array detector

DHA : Acide docosahexaénoïque

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DPPH: 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl

E. coli : *Escherichia coli*

EPA : Acide eicosapentaénoïque

FAO : Food and Agriculture Organization

Fe : Fer

FT-IR: Fourier Transform InfraRed spectroscopy

g : Gramme

GC-FID : Chromatographie en Phase Gazeuse - Détecteur à Ionisation de Flamme

GC-Fid : Gas Chromatography – Flame Ionization Detector

GC-MS : Gas Chromatography – Mass Spectrometry

GRAS : Generally Recognized As Safe

h : Heure

H% : Teneur en eau

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène **HCl** : Chlorure d'hydrogène. **HNO₃** : Acide nitrique

Hplc : Chromatographie en phase liquide à haute performance

HSA: Human serum albumin

Hz : Hertz

Kcal/mol : Kilocalorie par mole **KOH** : Hydroxyde de potassium **kV** : Kilovolt

L : Litre

L. monocytogenes : *Listeria monocytogenes*

m : Mètre

M : Molaire **Mbar** : Millibar **mg** : Milligramme **min** : Minute

mm : Millimètre

mM : Millimolaire

MS : Mass Spectrometry

ms : Milliseconde

N : Normalité

NaCl : Chlorure de sodium

NaOH : Hydroxyde de sodium

NF-κB : Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells

NH₄B(OH)₄ : Tétrahydroxyborate d'ammonium

nm : Nanomètre

P. aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*

p/v : Poids/volume

Pb : Plomb

PFRAP : Pouvoir réducteur du ferricyanure de potassium

pH: Potentiel d'hydrogène.

PHE247 : Phénylalanine en position 247

PLOOH: Phospholipides hydroperoxydes

ppm : Particules Par Million.

ROS : Espèces réactives de l'oxygène

rpm : Rotation par minute

S : Seconde

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

S. typhimurium : *Salmonella typhimurium*

t : Temps

T : aliment standard

T° : Température

TNF- α : Tumor Necrosis Factor alpha

UFC : Unité Formant Colonie

UV : Ultraviolet

UV-VIS : Spectroscopie ultraviolette-visible

V:V:volume/volume

VAL248 = Valine en position 248 Zn : zinc

µg : Microgramme

µL : Microlitre

Table des matières

Avant-propos	
Dédicace	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction.....	1
<u>Chapitre I : Partie bibliographique</u>	
I. Crevette bleu-rouge <i>Aristeus antennatus</i> (Risso, 1816).....	3
I.1 Présentation de l'espèce.....	3
I.2. Systématique.....	4
I.3. Morphologie.....	5
I.4. Reproduction	6
I.5. Régime alimentaire	7
I.6. Valeur nutritionnelle.....	7
I.7. Coproduits de crevettes	9
I.7.1. Farine.....	11
I.7.2. Hydrolysats protéiques.....	12
I.7.3. Chitine et chitosane.....	13
I.7.4. Astaxanthine	14
II. Astaxanthine	15
II.1. Généralités.....	15
II.2. Structure.....	16
II.3. Propriétés physico-chimiques.....	18
II.4. Sources.....	19
II.4.1. Microorganismes	19
II.4.1.1. <i>Haematococcus pluvialis</i>	19

II.4.1.2. <i>Phaffia rhodozyma</i>	20
II.4.1.3. <i>Paracoccus carotinifaciens</i>	21
II.4.2. Poissons et crustacés.....	22
II.5. Propriétés biologiques.....	23
II.5.1. Activité antioxydante	23
II.5.2. Activité anti-inflammatoire.....	24
II.5.3. Activité anticancéreuse.....	26
II.5.4. Activité antidiabétique.....	27
II.5.5. Astaxanthine et maladies cardiovasculaires.....	28
II.5.6. Astaxanthine et système immunitaire.....	29
III. Tilapia " <i>Oreochromis sp.</i> ".....	30
III.1. Généralités.....	30
III.2. Taxonomie	31
III.3. Caractéristiques morphologiques.....	32
III.4. Habitat et répartition géographique	33
III.5. Reproduction	34
III.6. Habitudes alimentaires.....	34

Chapitre II : Matériels et Méthodes

1. Préparation de la farine des sous-produits de crevettes.....	36
2. Caractérisation de la farine des sous-produits de crevettes.....	36
2.1. Teneur en eau.....	36
2.2. Teneur en cendres.....	37
2.3. Protéines.....	37
2.4. Glucides.....	39
2.4.1. Calcul des glucides totaux.....	39
2.4.2. Identification des sucres par chromatographie en phase liquide couplée à un détecteur Réfractométrie.....	39

2.4.2.1.	Hydrolyse des sucres.....	39
2.4.2.2.	Analyse par HPLC-RID.....	39
2.5.	Dosage des lipides par la méthode de Folch.....	40
2.6.	Analyse des acides gras.....	41
2.6.1.	Trans-méthylation.....	41
2.6.2.	Détermination du profil des acides gras.....	41
2.7.	Dosage des éléments traces métalliques (ETMs).....	42
2.7.1.	Digestion acide par voie humide.....	42
2.7.2.	Dosage des ETMs par spectrophotométrie d'absorption atomique.....	42
3.	Développement de méthodes d'extraction verte de l'astaxanthine.....	43
3.1.	Extraction de l'astaxanthine par les solvants organiques (GRAS).....	43
3.1.1.	Choix du solvant.....	43
3.1.2.	Optimisation des paramètres d'extraction.....	43
3.2.	Extraction d'astaxanthine par les huiles végétales.....	44
3.2.1.	Choix du solvant.....	44
3.2.2.	Optimisation des paramètres d'extraction	44
3.3.	Détermination spectrophotométrique de l'astaxanthine.....	44
4.	Variation saisonnière de l'astaxanthine.....	45
5.	Effet de la cuisson sur la teneur en astaxanthine.....	45
6.	Identification et quantification de l'astaxanthine par HPLC-DAD-APCI-MS.....	45
7.	Évaluation des activités biologiques de l'astaxanthine.....	46
7.1.	Activité antioxydante.....	46
7.1.1.	Détermination de l'activité antiradicalaire par piégeage du radical libre DPPH.....	46
7.1.2.	Pouvoir réducteur du ferricyanure de potassium (PFRAP).....	47
7.2.	Activité antimicrobienne.....	47
7.2.1.	Souches microbiennes.....	47
7.2.2.	Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	47
7.3.	Activité anti-inflammatoire.....	48

7.3.1. Activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i> de l'astaxanthine.....	48
7.3.1.1. Test d'inhibition de la dénaturation de l'albumine (BSA).....	48
7.3.1.2. Test de stabilisation de la membrane des érythrocytes (HRBC).....	48
7.3.2. Activité anti-inflammatoire <i>in silico</i> de l'astaxanthine.....	49
7.3.2.1. Inhibition de NF- κ B par l'astaxanthine.....	49
7.3.2.2. Inhibition de la COX-2 par l'astaxanthine.....	49
7.3.2.3. Prédiction ADMET.....	50
8. Effet de la supplémentation en astaxanthine sur la croissance du tilapia rouge.....	50
8.1. Tilapia « <i>Oreochromis</i> sp ».....	50
8.2. Conditions d'élevage.....	50
8.3. Formulation et composition des régimes expérimentaux.....	51
8.4. Effet des régimes alimentaires sur la croissance du tilapia.....	53
8.5. Développement de la pigmentation des poissons durant la croissance	53
8.6. Développement de la composition nutritionnelle.....	53
9. Analyse statistique.....	53

Chapitre III: Résultats et Discussion

1. Caractérisation de la farine des sous-produits de crevettes.....	54
1.1. Teneur en eau	54
1.2. Teneur en cendres.....	55
1.3. Teneur en protéines	56
1.4. Glucides.....	56
1.4.1. Glucides totaux.....	56
1.4.2. Identification des sucres par HPLC-RID.....	57
1.5. Les lipides.....	58
1.6. Profil des acides gras.....	59
1.7. Dosage des éléments traces métalliques (ETMs).....	63
2. Développement de méthodes d'extraction verte de l'astaxanthine.....	65

2.1.	Extraction de l'astaxanthine par les solvants organiques (GRAS).....	65
2.1.1.	Choix du solvant.....	65
2.1.2.	Rapport solide-liquide	67
2.1.3.	Température d'extraction.....	68
2.1.4.	Durée d'extraction.....	69
2.2.	Extraction de l'astaxanthine par les huiles végétales.....	70
2.2.1.	Choix de l'huile.....	70
2.2.2.	Rapport solide-liquide.....	71
2.2.3.	Température d'extraction.....	72
2.2.4.	Durée d'extraction.....	73
3.	Variation saisonnière de l'astaxanthine.....	74
4.	Effet du traitement thermique sur la stabilité de l'astaxanthine.....	76
5.	Identification et quantification de l'astaxanthine par HPLC-DAD-APCI-MS.....	78
6.	Activités biologiques de l'astaxanthine.....	80
6.1.	Activité antioxydante.....	80
6.2.	Activité antimicrobienne.....	83
6.3.	Activité antiinflammatoire.....	85
6.3.1.	Test d'inhibition de la dénaturation de l'albumine (BSA).....	85
6.3.2.	Test de stabilisation de la membrane des érythrocytes.....	87
6.3.3.	Activité anti-inflammatoire in silico de l'astaxanthine.....	89
7.	Effet de la supplémentation de l'astaxanthine sur la croissance du tilapia.....	97
7.1.	Suivie de la croissance.....	97
7.2.	Effet de l'astaxanthine sur la pigmentation du tilapia rouge.....	100
7.3.	Développement de la composition nutritionnelle.....	104
7.3.1.	Teneur en matière sèche et en cendres	104
7.3.2.	Teneur en protéines.....	107
7.3.3.	Teneur en lipides.....	109
7.3.4.	Teneur en glucides.....	111
	Conclusion.....	113
	Références bibliographiques.....	116

Introduction

Introduction

Les produits de la mer regroupent une large diversité d'espèces, parmi lesquelles les crustacés occupent une place de choix dans l'industrie agroalimentaire. Les crevettes, en particulier, figurent parmi les produits halieutiques les plus valorisés sur le marché international en raison de leurs qualités nutritionnelles, de leur forte teneur en protéines et de leur faible teneur en lipides ([Chakraborty, 2025](#)). Cependant, leur transformation industrielle génère d'importantes quantités de déchets, principalement constitués des têtes, des carapaces et des queues, représentant entre 40 et 80 % de la biomasse totale selon l'espèce et le procédé utilisé ([Hosney et al., 2025](#)).

L'accumulation de ces sous-produits constitue un problème environnemental significatif, en raison des risques de pollution et des coûts liés à leur élimination ([Chakraborty, 2025](#)). Face à ces contraintes, la valorisation des déchets de crevettes apparaît comme une approche durable et stratégique, permettant à la fois de réduire l'impact environnemental des industries de transformation et de générer des produits à forte valeur ajoutée, notamment par l'exploitation de composés d'intérêt biologique ([Zuorro et al., 2020](#) ; [Antu et al., 2024](#)).

Les sous-produits de crevettes sont en effet riches en composés bioactifs d'intérêt, tels que les protéines, la chitine, les acides gras polyinsaturés à longue chaîne (EPA et DHA) et les caroténoïdes, parmi lesquels l'astaxanthine occupe une place particulière en raison de son potentiel biologique élevé ([Saini et al., 2020](#)). Dans ce contexte, *Aristeus antennatus*, représente une espèce d'importance économique et nutritionnelle notable. Elle se distingue par une forte teneur en acides gras oméga-3 ainsi que par une concentration élevée en astaxanthine, ce qui en fait une ressource particulièrement attractive pour l'extraction naturelle de ce caroténoïde à partir de ses sous-produits ([Chakraborty, 2025](#)). L'exploitation ciblée de cette espèce offre ainsi une opportunité prometteuse pour le développement de procédés durables de production d'astaxanthine d'origine marine.

L'astaxanthine est une xanthophylle rouge reconnue comme l'un des antioxydants naturels les plus puissants. Son activité antioxydante est estimée supérieure à celle de nombreux autres caroténoïdes et vitamines antioxydantes, en raison de sa capacité élevée à

neutraliser les radicaux libres et à inhiber les processus d'oxydation lipidique (Liu *et al.*, 2020). Outre son pouvoir antioxydant, l'astaxanthine présente des propriétés biologiques variées, incluant des activités anti-inflammatoires, antimicrobiennes, anti-vieillessement, ainsi que des effets protecteurs contre diverses pathologies métaboliques et cardiovasculaires (Youssef *al.*, 2025). Grâce à ces propriétés, l'astaxanthine trouve des applications dans de nombreux domaines, notamment dans les industries agroalimentaire, pharmaceutique, nutraceutique, cosmétique et biomédicale (Polamraju *et al.*, 2025). En aquaculture, elle est particulièrement recherchée en tant qu'ingrédient fonctionnel, en raison de son rôle dans l'amélioration de la pigmentation, de la croissance, de la résistance au stress oxydatif et de l'état sanitaire général des poissons d'élevage (Li *et al.*, 2025).

Le tilapia (*Oreochromis* sp.) est l'une des espèces de poissons les plus élevées au monde, en raison de sa croissance rapide, de sa rusticité et de la qualité nutritionnelle de sa chair (Cai *et al.*, 2025). Toutefois, les poissons sont incapables de synthétiser les caroténoïdes et doivent donc les obtenir exclusivement par l'alimentation. L'enrichissement des rations alimentaires en astaxanthine naturelle constitue ainsi une stratégie nutritionnelle prometteuse pour améliorer la pigmentation, les performances zootechniques et la qualité nutritionnelle du tilapia, tout en renforçant sa résistance aux stress physiologiques en conditions d'élevage intensif (Peng *et al.*, 2025).

Dans ce contexte, l'objectif principal de cette thèse est de valoriser les sous-produits de la crevette rouge *Aristeus antennatus* par l'extraction de l'astaxanthine, d'évaluer ses activités biologiques et d'étudier son potentiel en tant qu'ingrédient fonctionnel dans l'alimentation du tilapia rouge (*Oreochromis* sp.). Plus précisément, ce travail vise à développer et optimiser des procédés d'extraction de l'astaxanthine, à caractériser ses propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes, puis à analyser ses effets sur la pigmentation, la croissance et la composition nutritionnelle du tilapia.

Chapitre I :
Partie bibliographique

I. Crevette bleu-rouge *Aristeus antennatus* (Risso, 1816)

I.1. Présentation de l'espèce

Aristeus antennatus (Risso, 1816) (figure 1), communément appelée crevette bleu-rouge ou tout simplement rouge, est une espèce de crevette d'eau profonde très appréciée pour ses qualités culinaires, nutritionnelle, et son importance économique dans les pêcheries méditerranéennes (Dallarés et al., 2023).

L'espèce est répartie dans toute la mer Méditerranée, dans les eaux de l'océan Atlantique (OA) adjacentes au détroit de Gibraltar, du Portugal au Cap-Vert, et dans l'ouest de l'océan Indien (OI), de l'Afrique du Sud au canal du Mozambique, à Zanzibar et aux îles Maldives ; plus récemment, sa présence au large des côtes brésiliennes a été suggérée (figure 2) (Fernández et al., 2011 ; Heras et al., 2019).

Des études biologiques indiquent que cette espèce est la plus eurybathique de la mer Méditerranée, présente à des profondeurs allant de 80 à 3300 m, avec une plus grande abondance dans les premiers 1 000 m de profondeur, où la pêche est pratiquée (Sardà et al., 2010 ; Heras et al., 2019).



Figure 1 : Crevette bleu-rouge *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) (García-Rodríguez, 2003).

L'abondance et la biomasse des crevettes rouges diminuent en dessous de 1000 m, où l'on observe une réduction importante de la proportion de femelles. Cela signifie que la reproduction a lieu principalement sur la pente moyenne à la fin du printemps et en été à environ 700-800 m. En dessous de cette profondeur, l'abondance d'*A. antennatus* diminue

fortement, mais certains individus ont néanmoins encore été enregistrés jusqu'à 2880 m dans la Méditerranée occidentale (Sardà *et al.*, 2010).



Figure 2 : Répartition géographique d'*A. antennatus* (Kapis, 2012)

I.2. Systématique

La position taxonomique d'*Aristeus antennatus*, décrite ci-après proposée par Bowman et Abele en 1982:

Embranchement : Arthropodes

Sous embranchement : Crustacés

Super-classe : Multicrustacea

Classe : Malacostracés

Sous classe : Eumalacostracés

Super ordre : Eucaridés

Ordre : Décapodes

Sous ordre : Dendrobranchiata

Super famille : Penaeoidés

Famille : Aristaeidés

Genre : *Aristeus*

Espèce : *Aristeus antennatus* (Risso, 1816)

I.3. Morphologie

La crevette « *Aristeus antennatus* » possède une teinte qui varie entre le rose et le rouge-orangé, elle se caractérise par un corps fin allongé. Les femelles sont plus grandes que les mâles, avec une longueur de carapace (CL) allant de 18 à 68 mm pour les femelles et de 18 à 36 mm pour les mâles dans les populations méditerranéennes (Abrás et al., 2022).

La partie antérieure qui s'appelle le céphalothorax est bien recouvert dorsalement d'une carapace lisse et robuste, elle porte antérieurement une épine antennaire et une épine branchiostège (figure 3). A la place de l'épine hépatique (absente), on trouve une légère carène oblique et un sillon branchial profond. Le rostre est court chez les mâles et long chez les femelles et les jeunes, son extrémité n'atteint pas le bord antérieur de l'écaille antennaire, il porte 3 dents dorsales. Pour les deux sexes, le bord ventral du rostre est sans dents (Carreton et al., 2019).

Les yeux sont bien développés et sont trouvés sur les deux côtés du rostre. Les antennes sont très longues et fines utilisées pour détecter les mouvements et les odeurs dans l'eau. Elle comporte huit pattes thoraciques (appendices), trois sont fusionnées à la tête pour former les maxillipèdes et les autres constituent les péréiopodes qui servent à la locomotion et à la respiration. Tandis que l'abdomen est la partie postérieure de la crevette, composé de cinq segments dépourvus de sillon (Carreton et al., 2019).

Le premier segment est lisse dorsalement et le deuxième présente seulement de légères indications de carènes. Les quatre derniers segments abdominaux se terminent postérieurement par une petite épine. Le telson est très étroit, comprimé latéralement, terminé en pointe. Les appendices abdominaux sont réduits, les cinq premiers constituent le pléopode et le dernier représente l'uropode (Lagardère, 1971 ; Arzel et al., 1992 ; Kherraz, 2006 ; Adda-Hanifi, 2007 ; Noël, 2015, Dallarés et al., 2023).

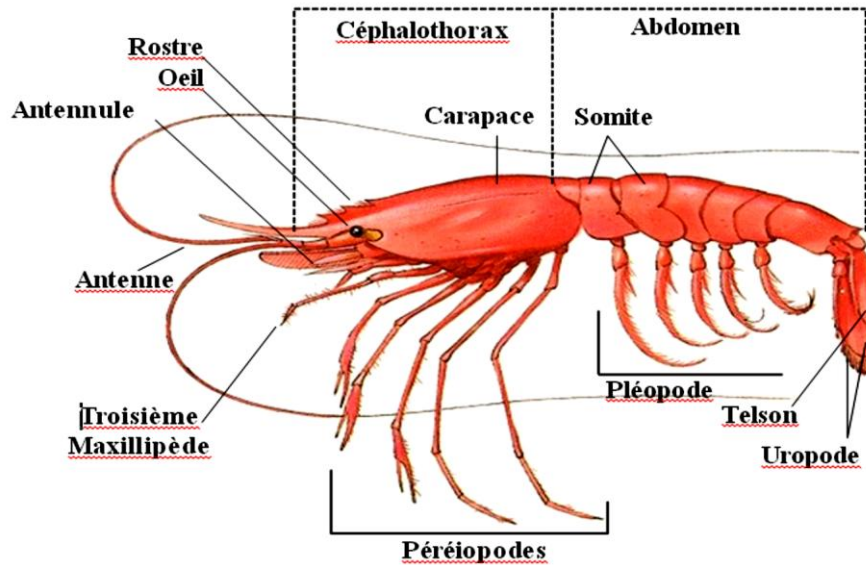


Figure 3 : Anatomie externe d'*Aristeus antennatus* (Quero et al., 2001).

I.4. Reproduction

La période de reproduction définie à partir de l'évolution des stades ovariens commence d'Avril à Septembre avec des valeurs maximales de Mai à Août, dont les adultes se retrouvent à 400-900 m de profondeur (Mouffok et al., 2008 ; Abras et al., 2022), où se trouve principalement des femelles reproductrices portant un ou plusieurs spermatophores (Agulló et al., 2022).

La maturité sexuelle des femelles est indiquée en fonction du stade de la maturité des gonades (Agulló et al., 2022). Lors de leur première maturité sexuelle, les femelles présentent généralement une taille comprise entre 24 et 29 mm, tandis que celle des mâles se situe entre 18 et 22 mm (Aydın et Tıraşın, 2023). En ce qui concerne la fécondité relative moyenne, la production d'œufs est estimée à 8000 unités par gramme de biomasse corporelle (Nouar, 2001).

Aristeus antennatus est une espèce avec un thélycum ouvert, pour cette raison les processus d'accouplement et de fécondation se déroulent complètement à l'extérieur, et le spermatophore est éliminé à chaque mue (Kapiris et Thessalou-Legaki, 2009).

I.5. Régime alimentaire

Brian (1931) fut le premier à s'intéresser au régime alimentaire d'*Aristeus antennatus*. Cette espèce, reconnue pour sa forte activité alimentaire, se nourrit d'une grande diversité d'organismes benthiques et endobenthiques (Carreras-Colom, 2021).

Maynou et Cartes (1997) ont identifié *A. antennatus* comme l'un des décapodes benthiques de la Méditerranée présentant une activité alimentaire particulièrement élevée. Son régime alimentaire est dominé par les petits crustacés, les mollusques et les polychètes, tandis que les petits poissons sont consommés à une faible fréquence (Kapisir et Thessalou-Legaki, 2011).

Le régime alimentaire de cette espèce varie en fonction de la saison et de la profondeur. En automne, les proies dominantes sont les polychètes et les ophiuroïdes. Entre l'hiver et l'été, les principales proies comprennent les polychètes, les restes de poissons, les échinides et les coquilles de ptéropodes (Chartosia et al., 2005).

Des aliments secondaires, tels que les macroalgues brunes et les restes de posidonies, sont relativement fréquents dans son régime alimentaire (Nouar et al., 2011). Les proies préférées d'*A. antennatus* sont les organismes micronectoniques, notamment les Myctophidae, *Sergia robusta* et *Meganyctiphanes norvegica* (Cartes et al., 2008).

I.6. Valeur nutritionnelle

Les crustacés en général, et les crevettes en particulier, sont souvent étudiés pour leur potentiel en protéines, chitine, astaxanthine, gélatine et acides gras polyinsaturés (Ismail et al., 2023).

La teneur en eau, les taux de protéines et de lipides d'*Aristeus antennatus* dépendent des variations saisonnières (Rosa et Nunes, 2003). La crevette est reconnue comme une excellente source de protéines, avec une teneur oscillant entre 17 % et 21 % selon les espèces (Oksuz et al., 2009 ; Wu et al., 2021). Une étude de Rosa et Nunes (2004) sur son profil d'acides aminés a révélé que les acides aminés essentiels les plus abondants sont l'arginine, l'histidine et la leucine (tableau 1).

Tableau 1 : Composition nutritionnelle des crevettes rouges *Aristeus antennatus* (Rosa et Nunes, 2004)

	Hiver	Été
Humidité (%)	74,5 ± 0,7	73,6 ± 0,3
Protéines (%)	21,4 ± 0,2	22,0 ± 0,4
Lipides (%)	0,1 ± 0,1	0,3 ± 0,1
Cendres (%)	2,0 ± 0,1	2,0 ± 0,1
Glycogène (%)	1,2 ± 0,4	1,8 ± 1,0
Cholesterol (mg)	72,4 ± 3,30	60,8 ± 3,4
Energie	407,9 ± 9,1	434,4 ± 19,8
Acides aminés essentiels (EAA)		
Thréonine	0,63 ± 0,03	0,74 ± 0,04
Valine	0,71 ± 0,04	0,82 ± 0,07
Méthionine	0,46 ± 0,02	0,57 ± 0,06
Isoleucine	0,60 ± 0,04	0,69 ± 0,07
Leucine	1,29 ± 0,05	1,46 ± 0,10
Phénylalanine	0,67 ± 0,04	0,81 ± 0,08
Histidine	0,30 ± 0,03	0,38 ± 0,03
Lysine	1,46 ± 0,07	1,90 ± 0,25
Arginine	1,66 ± 0,14	2,16 ± 0,34
ΣEAA	7,77 ± 0,46	9,31 ± 0,25
Acides aminés non essentiels (NEAA)		
Acide aspartique	1,68 ± 0,06	2,01 ± 0,13
Sérine	0,64 ± 0,02	0,79 ± 0,01
Acide glutamique	2,66 ± 0,09	3,08 ± 0,10
Glycine	0,99 ± 0,08	1,35 ± 0,05
Alanine	0,91 ± 0,04	1,06 ± 0,05
Cystine	0,13 ± 0,01	0,15 ± 0,01
Tyrosine	0,59 ± 0,04	0,70 ± 0,03
Proline	1,22 ± 0,32	1,40 ± 0,05
ΣNEAA	8,82 ± 0,41	10,54 ± 0,30

Les lipides, bien que présents en faible teneur, incluent une proportion élevée d'acides gras polyinsaturés (AGPI), principalement l'acide eicosapentaénoïque (EPA) et l'acide docosahexaénoïque (DHA), reconnus pour leurs bénéfices sur la santé, notamment dans la régulation de l'homéostasie corporelle (Yerlikaya et al., 2013 ; Saini et al., 2020).

Les crevettes constituent une source majeure de chitine, un polysaccharide naturel et biodégradable (Frantz et al., 2020), ainsi que d'astaxanthine, le principal caroténoïde des crevettes rouges, doté d'un puissant pouvoir antioxydant (De Aguiar Saldanha Pinheiro et al., 2023). Enfin, les crevettes renferment divers minéraux, comme le calcium (concentré dans leur carapace) et le magnésium. Des teneurs significatives en manganèse ont également été mesurées chez *Aristeus antennatus* (Ghorab, 2016).

I.7. Coproduits de crevettes

Les industries de transformation des crevettes génèrent une quantité importante de déchets, considérés comme des parties non utilisables de la crevette. En général, les crevettes sont stockées et exportées sous forme congelée, avec ou sans carapace, en fonction de la demande du marché. Cependant, lors de leur transformation, environ 50 à 60 % de déchets solides sont générés sous forme de coproduits comprenant la tête, les viscères et la carapace, et la queue (Sachindra et Bhaskar, 2008 ; Senphan et Benjakul, 2012).

Ces coproduits causent des problèmes environnementaux ainsi que des difficultés d'élimination en raison des rejets non réglementés. Bien qu'une petite quantité de déchets de crevettes soit utilisée comme aliment pour animaux ou comme ingrédient dans les formulations d'aliments pour l'aquaculture, une grande partie de ces coproduits est gaspillée. Cela entraîne une perte de composés bioactifs précieux et une augmentation de la pollution environnementale. La récupération des molécules bioactives (tableau 2) à partir de ces déchets serait bénéfique pour l'économie des transformateurs de crevettes ainsi que pour celle du pays. En outre, cela contribuerait à réduire la pollution environnementale liée au rejet des déchets de crevettes (Nirmal et al., 2020 ; Nirmal et al., 2024 ; Rossi et al., 2024 ; Eggink et al., 2025).

La composition de ces coproduits est variée : ils contiennent une quantité significative de protéines (20–40 %), de chitine (15–40 %) et de minéraux, principalement

du carbonate de calcium (20–50 %), tout en ayant une faible teneur en lipides (figure 4) (Trung et Phuong, 2012 ; Mathew, 2020 ; Ismail et al., 2023). Parmi les caroténoïdes présents dans les déchets de crevettes, l’astaxanthine est particulièrement abondante et reconnue pour son puissant pouvoir antioxydant (Cabanillas-Bojórquez et al., 2021 ; Ficano et al., 2024 ; Kaya et al., 2025).

Tableau 2 : Les différents produits à haute valeur ajoutée issus de coproduits de crevette et leur utilisation (Randriamahatody, 2011).

Produit	Intérêt	Domaine d’utilisation
Chitine et chitosane	-Bioactivité -Rétention d’eau -Chélation de métaux	-Agroalimentaire -Nutraceutique -Pharmaceutique -Cosmétique -Agriculture -Traitement des eaux
Astaxanthine	-Bioactivité -Pigmentation	-Alimentation animale -Alimentation humaine -Nutraceutique
Peptides	-Bioactivité -Digestibilité élevée	-Alimentation humaine -Alimentation animale -Nutraceutique -Milieu de culture microbienne
Substances aromatiques	-Aromatisant naturel	-Agroalimentaire
Glucosamine	-Nutrition	-Diététique
Phosphate alcaline	-Enzymatique	-Biotechnologie
Eléments minéraux	-Nutrition	-Agroalimentaire
Huile riche en oméga 3 et oméga 6	-Nutrition -Bioactivité	-Agroalimentaire -Nutraceutique

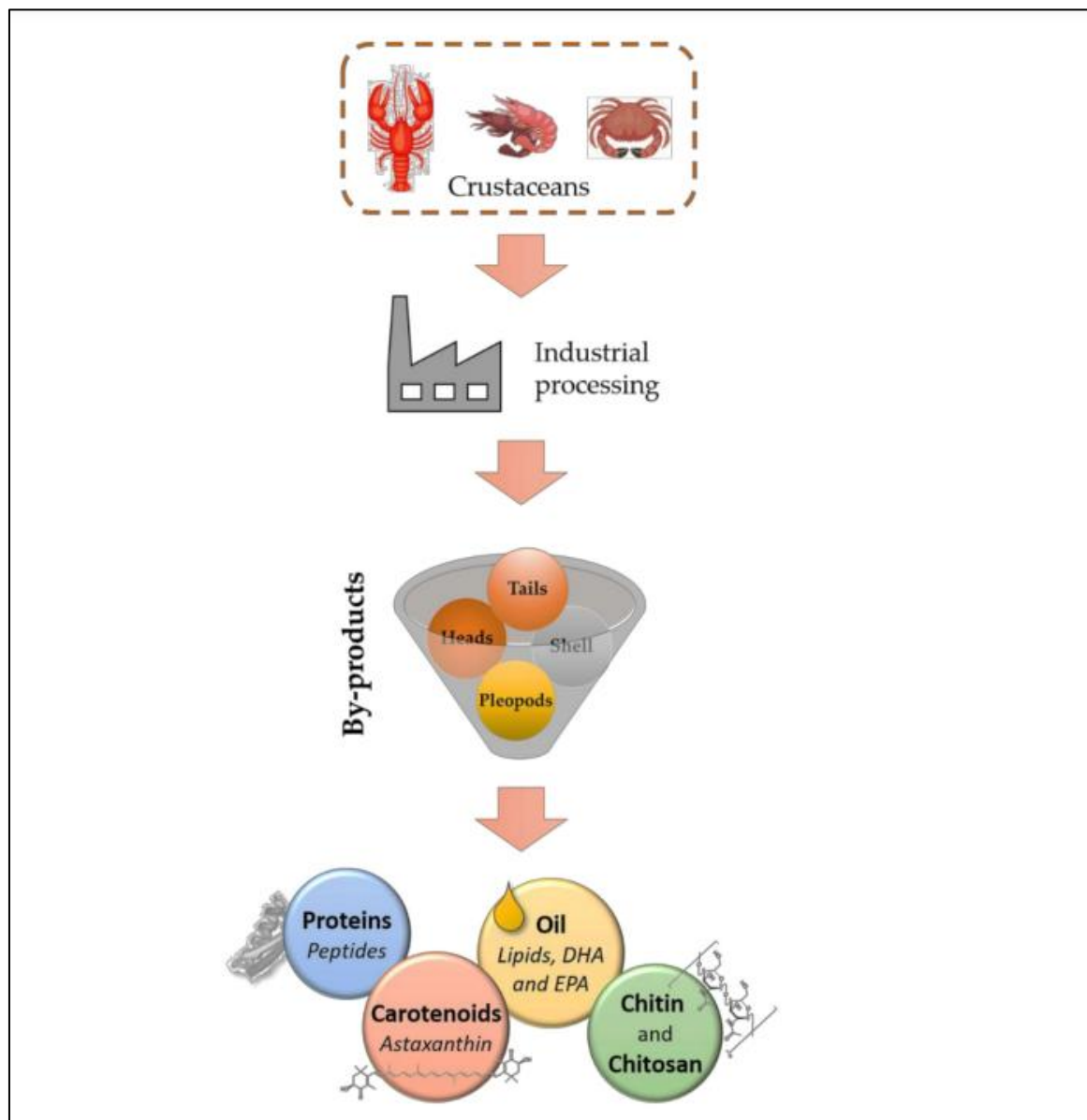


Figure 4 : Composés précieux dérivés des sous-produits de la transformation des crustacés
(De Aguiar Saldanha Pinheiro et al., 2021)

I.7.1. Farine

Dans l'industrie de transformation des crevettes, environ 50 % du poids total est constitué de sous-produits, parmi lesquels la tête représente 44 % de ces déchets. La farine de crevette est principalement produite à partir de têtes et d'exosquelettes de crevettes industrielles déshydratés (Brasileiro et al., 2012). Elle peut également inclure des viscères dans sa composition (Carmen et al., 2023).

Cette farine est reconnue pour sa valeur nutritionnelle élevée, notamment en raison de sa richesse en fibres alimentaires naturelles, qui lui confèrent des propriétés préventives contre certaines maladies, telles que l'obésité (Abuzar et al., 2023). Les protéines constituent le principal composant de la farine, suivies par la chitine, qui offrent des avantages pour la santé intestinale, particulièrement chez les personnes souffrant de malnutrition (Antu et al., 2024). Grâce à ses propriétés nutritionnelles exceptionnelles, elle est intégrée dans les formulations d'aliments fonctionnels destinés à améliorer la santé humaine ou animale (figure 5) (Tkaczewska et al., 2024 ; Chakraborty, 2025 ; Mittal et al., 2025).



Figure 5 : Différents produits développés à partir des sous-produits de crevettes (Abuzar et al., 2023).

I.7.2. Hydrolysats protéiques

Les déchets de crevettes représentent une excellente source de protéines à haute valeur nutritionnelle. Ces protéines interagissent avec d'autres composés bioactifs tels que les minéraux, principalement le carbonate de calcium (CaCO_3), la chitine et les caroténoïdes (Leiva-Portilla et al., 2023).

L'hydrolysate de protéines obtenu à partir des déchets de crevettes peut être utilisé dans les produits pharmaceutiques, cosmétiques, la nutrition humaine, l'alimentation des animaux, et dans la technologie alimentaire en tant qu'arôme et ingrédient fonctionnel (Rossi et al., 2024).

Le concentré de protéines de crevettes constitue une solution efficace pour valoriser les déchets de crevettes. Ce produit alimentaire riche en protéines, avec une teneur de 75 %, offre plusieurs avantages clés, un coût réduit, une faible teneur en matières grasses et en humidité, une absence d'odeur, une haute digestibilité, une facilité de stockage sans réfrigération, et une longue durée de conservation (Brasileiro et al., 2012).

Ces hydrolysats ont démontré une activité antioxydante significative, notamment en inhibant la peroxydation des lipides et en neutralisant les espèces réactives de l'oxygène (ROS). De plus, ils ont montré une capacité à réguler la pression artérielle, ce qui en fait un ingrédient prometteur pour le développement de produits fonctionnels destinés à la santé cardiovasculaire (Rossi et al., 2024).

I.7.3. Chitine et chitosane

Les carapaces de crevettes ont une faible valeur économique en raison de leur utilisation comme aliments pour animaux ; cependant, elles sont riches en protéines, en minéraux et en chitine (Riofrio et al., 2021). Ces sous-produits pourraient être valorisés pour la production de chitine et de son dérivé, le chitosane, qui présentent une haute valeur économique tout en étant associés à des coûts de production réduits (Pujari et al., 2016 ; Hosney et al., 2022).

La chitine est reconnue comme le deuxième polymère (polysaccharide) le plus abondant dans la nature, principalement présente dans les exosquelettes des crustacés tels que les crabes et les crevettes. Ce biopolymère est biocompatible, biodégradable, non toxique, et bioabsorbable, et il possède divers effets biologiques, notamment des propriétés antibactériennes, antioxydantes et cicatrisantes pour les plaies (Kandra et al., 2011).

L'un des scénarios les plus prometteurs sur le plan économique consiste à extraire le chitosane des carapaces de crevettes. Cette approche permet de transformer ces déchets peu valorisés en une ressource précieuse représentée par le chitosane, un produit

commerciallement important avec une vaste gamme d'applications dans des domaines tels que l'alimentation, l'agriculture, la pharmacie, la cosmétique et le traitement des eaux (Mao et al., 2017 ; Yin et al., 2021 ; Hosney et al., 2022).

Les exosquelettes de crustacés constituent la principale source de chitine, ainsi que de sa forme désacétylée, le chitosane. La poudre de chitine, obtenue à partir des coproduits de crustacés, subit plusieurs étapes de traitement. Ces étapes incluent la déminéralisation, visant à éliminer les composés minéraux tels que le carbonate de calcium (CaCO_3), et la déprotéinisation, qui permet de retirer les protéines résiduelles grâce à des traitements chimiques ou enzymatiques. Pour obtenir un produit de haute pureté, une étape supplémentaire de décoloration peut être ajoutée afin d'éliminer les pigments résiduels, tels que l'astaxanthine (De Aguiar Saldanha Pinheiro et al., 2021).

I.7.4. Astaxanthine

L'astaxanthine (ASX) est un pigment naturel appartenant à la classe des caroténoïdes, caractérisé par sa couleur rouge-orange vibrante et ses propriétés antioxydantes puissantes. C'est le caroténoïde le plus abondant dans les déchets de crevettes, en particulier dans le céphalothorax (Cabanillas-Bojórquez et al., 2021 ; Tran et al., 2022 ; Jafari et al., 2024 ; Yu et al., 2025 ; Kaya et al., 2025).

Les déchets de crevettes sont réputés pour leur teneur élevée en astaxanthine de haute qualité. En raison de ses caractéristiques spécifiques de liaison, l'astaxanthine est principalement présente dans les déchets de crevettes sous forme de complexes chimiques associés à d'autres composés. Elle se lie notamment aux protéines pour former des caroténoprotéines ou aux lipoprotéines pour former des caroténolipoprotéines (Cheong et Muskhazli, 2020 ; Rossi et al., 2024).

La teneur en astaxanthine des crevettes varie en fonction de plusieurs facteurs, notamment les quantités de caroténoïdes disponibles dans leur alimentation, les conditions environnementales, les espèces de crevettes, ainsi que les méthodes employées pour l'extraction. Ces variations influencent la qualité et la concentration de l'astaxanthine présente dans les sous-produits des crevettes, rendant son extraction et sa valorisation dépendantes des pratiques d'élevage et des techniques industrielles utilisées (De Aguiar Saldanha Pinheiro et al., 2021 ; Rossi et al., 2024).

Plusieurs méthodes ont été utilisées pour l'extraction de l'astaxanthine à partir des déchets de crevettes (Chintong et al., 2019 ; Denga et al., 2024). Parmi ces techniques figurent l'extraction à l'aide d'huiles comestibles, d'acide chlorhydrique ou de solvants organiques, ainsi que la fermentation à l'acide lactique, qui est considérée comme une méthode pratique et économique (López-Cervantes et al., 2006 ; Jafari et al., 2024 ; Panagiotakopoulos et Nasopoulou, 2024).

Grâce à son activité antioxydante puissante, l'astaxanthine trouve des applications importantes dans divers secteurs, notamment les aliments fonctionnels, l'alimentation des crustacés et des salmonidés, les cosmétiques et les industries alimentaires (Handayani et al., 2008 ; Debnath et al., 2024 ; Peng et al., 2025).

II. Astaxanthine

II.1. Généralités

En 1938, Kuhn et Sörensen ont caractérisé et identifié l'ovoverdine, extraite à partir de la langouste *Astacus gammarus*, comme un caroténoïde de type xanthophylle, et l'ont renommée « astaxanthine » (Nishida et al., 2023).

L'astaxanthine (3,3'-dihydroxy- β,β -carotène-4,4'-dione) est un caroténoïde lipophile sans activité provitaminique A chez l'homme appartenant au groupe des xanthophylles (Fakhri et al., 2018 ; Stachowiak et Szulc, 2021 ; Medoro et al., 2024 ; Peng et al., 2025 ; Meyer et al., 2025). Elle est responsable de la pigmentation rouge chez certains animaux marins, plantes et micro-organismes (Ambati et al., 2014 ; Peng et al., 2025). Ce pigment se retrouve fréquemment dans l'alimentation humaine, principalement issu du saumon, de la truite et des crustacés (Brendler et Williamson, 2019).

Cette molécule possède un pouvoir antioxydant 10 fois supérieur à celui du β -carotène, lutéine, zéaxanthine, canthaxanthine, 110 fois plus puissant que la vitamine E, 560 fois plus que les catéchines du thé vert, 800 fois plus que le Co-Q 10, 3000 fois plus que le resvératrol et 6000 fois plus que la vitamine C (Christaki et al., 2013 ; Barim-Oz et Sahin, 2016 ; Miao et al., 2019 ; Donoso et al., 2021 ; Patil et al., 2022).

Elle présente plusieurs activités biologiques, notamment des propriétés antitumorales, une protection contre les radicaux libres, la prévention de l'oxydation des acides gras polyinsaturés essentiels, ainsi que la réduction des effets néfastes de la lumière UV sur les membranes cellulaires et les tissus (Mezzomo et Ferreira, 2016 ; Kumar et al., 2022 ; Erzurumlu et al., 2023 ; Hwang et al., 2024 ; You et al., 2025 ; Zeini et al., 2025).

II.2. Structure

L'astaxanthine, dont la formule chimique est $C_{40}H_{52}O_4$, est un caroténoïde composé de groupes hydroxyle (-OH) et cétone (C=O). Elle est dérivée du β -carotène par 3-hydroxylation et 4-cétolisation au niveau des deux groupes terminaux ionones (figure 6). Son numéro CAS (Chemical Abstracts Service) est 472-61-7 (Seabra et Pedrosa, 2010 ; Bai et al., 2017 ; Lee, 2023).

La molécule d'astaxanthine est constituée de deux cycles terminaux reliés par une chaîne polyénique, elle a deux carbones asymétriques situés aux positions 3, 3' de l'anneau β -ionone avec un groupe hydroxyle (-OH) à chaque extrémité de la molécule (Ambati et al., 2014 ; Cheng et al., 2019 ; Nishida et al., 2023 ; Utomo et al., 2024). L'astaxanthine présente une couleur allant de l'orange au rouge foncé, en raison de la présence de 13 doubles liaisons conjuguées dans sa structure. Il est intéressant de noter que, sous sa forme cristalline, l'astaxanthine adopte une couleur noire-violette brillante (Stachowiak et Szulc, 2021 ; Nishida et al., 2023 ; Li et al., 2024).

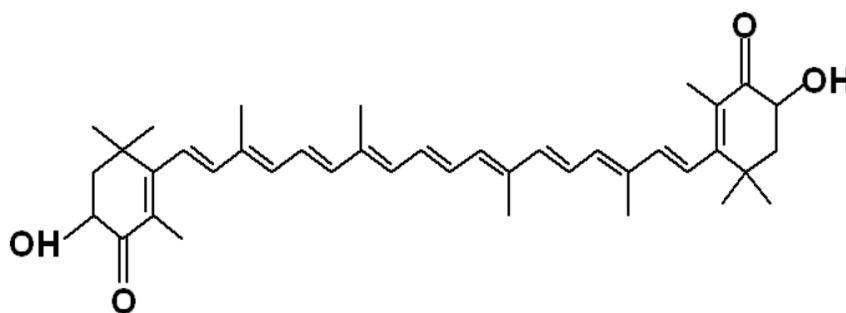


Figure 6 : structure de la molécule d'astaxanthine (Ambati et al., 2014).

L'astaxanthine présente plusieurs isomères géométriques en raison des nombreuses doubles liaisons conjuguées dans sa chaîne polyénique. Elle existe principalement sous forme All-trans (configuration majoritaire), avec des quantités plus faibles d'isomères 9-cis et 13-cis, et des traces d'isomères 15-cis et di-cis (deux doubles liaisons en configuration *cis*) (Yao et al., 2021 ; Dang et Yu, 2024 ; Han et al., 2025 ; Lu et al., 2025).

Chaque isomère géométrique de l'astaxanthine possède également trois isomères optiques distincts : une paire d'énantiomères (3S,3'S et 3R,3'R) et une forme méso (3R,3'S, ou inversement 3S,3'R) due à la présence de deux carbones chiraux situés en position 3 et 3' . Les carbones C3 et C3' de l'isomère 3R,3'R présentent tous deux une chiralité R, tandis que ceux de l'isomère 3S,3'S ont une chiralité S, ces deux configurations étant des énantiomères l'une de l'autre. En revanche, dans l'isomère méso 3R,3'S, le carbone C3 est chiral R et le carbone C3' est chiral S, ce qui rend la molécule globalement achirale (Yao et al., 2021 ; Zhang et al., 2024 ; Wang et al., 2024 ; Zhang et al., 2025 ; Huang et al., 2025 ; Polamraju et al., 2025).

Ces différentes configurations influencent les propriétés biologiques de l'astaxanthine, notamment son activité antioxydante, sa stabilité chimique et son interaction avec les membranes cellulaires (Snell et Carberry, 2022 ; Zheng et Huang, 2022 ; Li et al., 2024).

L'astaxanthine (AX) provenant de différentes sources présente des compositions distinctes en isomères optiques. L'isomère 3S,3'S est la forme majoritaire chez la microalgue *Haematococcus pluvialis*, tandis que l'isomère 3R,3'R prédomine dans la levure rouge *Phaffia rhodozyma*. L'astaxanthine synthétique, quant à elle, se compose d'un mélange des trois isomères optiques (3S,3'S, 3R,3'S et 3R,3'R) selon un rapport de 1:2:1 (Yao et al., 2021 ; Samuel et al., 2022 ; Zhu et al., 2022 ; Zhang et al., 2022 ; Nutakor et al., 2022 ; Li et al., 2025).

Les chercheurs ont mené des études comparatives sur les bioactivités et propriétés fonctionnelles de ces isomères. Plusieurs travaux ont révélé que l'isomère 3S,3'S présente des activités antioxydantes et anti-âge supérieures à celles des isomères 3R,3'R et 3R,3'S, aussi bien *in vivo* qu'*in vitro*. Ces résultats suggèrent que les stéréoisomères pourraient agir sur des cibles moléculaires distinctes dans les mécanismes antioxydants et

de lutte contre le vieillissement (Yao *et al.*, 2021 ; Samuel *et al.*, 2022 ; Zheng et Huang, 2022 ; Li *et al.*, 2024 ; Adıgüzel et Ülger, 2024).

L'astaxanthine peut se présenter sous forme libre, mais elle existe également sous forme estérifiée, avec des terminaisons liées à des acides gras, ou sous forme de complexe chimique associé à des protéines ou des lipoprotéines (Brotosudarmo *et al.*, 2020 ; Sakaguchi *et al.*, 2024 ; Yufeng *et al.*, 2025 ; Martin *et al.*, 2025).

II.3. Propriétés physico-chimiques

L'astaxanthine est une molécule très sensible aux températures élevées, à la lumière et aux conditions d'oxydation, que ce soit pendant le traitement ou le stockage des aliments. Cette sensibilité s'explique par la forte insaturation de sa structure moléculaire (Kim *et al.*, 2011 ; Goyudianto *et al.*, 2021 ; Dang *et al.*, 2024 ; Rivera-Hernández *et al.*, 2025).

C'est une molécule avec une masse molaire de 596,84 g/mol, une densité de 1,071 g/mL, un point de fusion de 216 °C et un point d'ébullition de 774 °C (Zhao *et al.*, 2019 ; Snell et Carberry, 2022 ; Davan *et al.*, 2023 ; Li *et al.*, 2023 ; Polamraju *et al.*, 2025). Elle présente une très faible solubilité dans l'eau et une solubilité modérée dans certains solvants organiques, tels que le dichlorométhane (30 mg/mL), le chloroforme (10 mg/mL), le DMSO (0,5 mg/mL) et l'acétone (0,20 mg/mL). Ces propriétés physico-chimiques en font une molécule lipophile, adaptée à des applications dans les milieux non polaires, mais nécessitant des stratégies de formulation spécifiques pour améliorer sa biodisponibilité dans les systèmes aqueux (Zhao *et al.*, 2019).

L'astaxanthine, bien que lipophile, présente une solubilité limitée dans les solvants non polaires en raison de la présence de deux groupes hydroxyle (-OH) aux extrémités de sa structure moléculaire. Ces groupes hydroxyle peuvent interagir avec des acides gras pour former des esters. L'astaxanthine estérifiée présente une hydrophobicité accrue par rapport à l'astaxanthine libre (Foss *et al.*, 2004 ; Stachowiak et Szulc, 2021 ; Sun *et al.*, 2023). Cette modification structurale réduit les interactions polaires et améliore sa compatibilité avec les milieux lipidiques, ce qui explique son utilisation privilégiée dans les formulations alimentaires et cosmétiques pour stabiliser le composé (Zhao *et al.*, 2019 ; Stachowiak et Szulc, 2021).

Le système de 11 doubles liaisons conjuguées présent dans l'astaxanthine est à l'origine de sa couleur rose à rouge caractéristique ainsi que de son puissant potentiel antioxydant. Ce système absorbe la lumière à des longueurs d'onde spécifiques, variant selon le solvant utilisé : 492 nm dans le diméthylsulfoxyde (DMSO), 477 nm dans l'acétone et le méthanol, 486 nm dans le diméthylformamide, et environ 489 nm dans le chloroforme (Stachowiak et Szulc, 2021)

II.4. Sources

II.4.1. Microorganismes

II.4.1.1. *Haematococcus pluvialis*

L'algue *Haematococcus pluvialis* constitue la principale source naturelle d'astaxanthine. Ce caroténoïde s'accumule dans le cytoplasme des cellules en réponse à des conditions de stress telles qu'une carence en nutriments, une température élevée ou une forte intensité lumineuse (Aneesh et al., 2022).

Le stress oxydatif et l'accumulation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) activent la voie de biosynthèse de l'astaxanthine. Ce processus débute par la production de β -carotène dans le chloroplaste, précurseur ensuite exporté vers le cytosol où il est converti en astaxanthine via une série de réactions enzymatiques. Parallèlement, les cellules de *H. pluvialis* subissent une restructuration cellulaire, marquée par la formation de vésicules lipidiques où l'astaxanthine s'accumule sous forme de gouttelettes, protégeant ainsi l'organisme des dommages oxydatifs (figure 7) (Snell et Carberry, 2022).

L'astaxanthine obtenue à partir de *Haematococcus pluvialis* se présente majoritairement sous forme estérifiée, principalement en monoesters (70 à 94 % des formes totales), liés à des acides gras insaturés de la famille des C18, tels que l'acide oléique (C18:1), linoléique (C18:2) et linolénique (C18:3). Une fraction mineure existe sous forme de diesters (15–25 %) ou libre (5 %) (Zhou et al., 2015 ; Hwang et al., 2020 ; Oslan et al., 2021 ; Lee et al., 2024 ; Pei et al., 2025).

Cette estérification, résultant de la liaison des groupes hydroxyle de l'astaxanthine avec des acides gras, améliore sa stabilité chimique et son hydrophobicité, facilitant son

stockage dans des gouttelettes lipidiques cytoplasmiques sous stress environnemental (Chen et al., 2015 ; Myint et al., 2023 ; Wilawan et al., 2024).

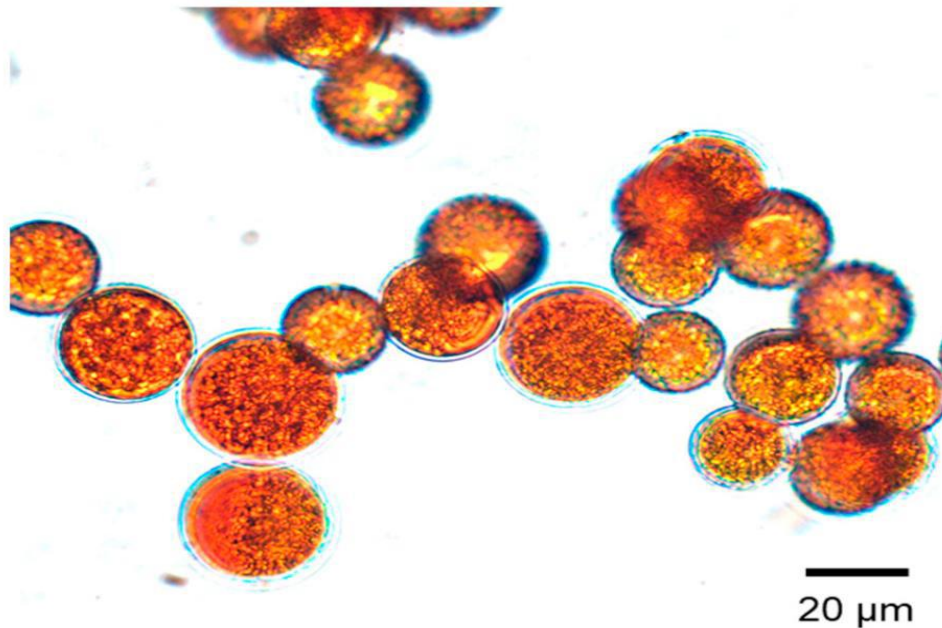


Figure 7 : Accumulation de l’astaxanthine par *Haematococcus pluvialis* (Nakano et Wiegertjes, 2020).

II.4.1.2. *Phaffia rhodozyma*

Phaffia rhodozyma est une levure rouge basidiomycète reconnue pour sa capacité à synthétiser l’astaxanthine via la voie du mévalonate, un processus métabolique impliquant des enzymes clés comme l’astaxanthine synthase (CrtS) (Luna-Flores et al., 2022). Bien que son rendement naturel en astaxanthine soit modéré (0,3 à 0,6 mg/g de biomasse sèche), cette levure est privilégiée pour sa facilité de culture en temps optimisé (3 à 5 jours) et ses besoins nutritionnels réduits, utilisant des substrats peu coûteux comme le glucose ou la mélasse (Brendler et Williamson, 2019 ; Mussagy et al., 2022).

Contrairement à d’autres sources naturelles (ex. : *Haematococcus pluvialis*), l’astaxanthine produite par *P. rhodozyma* est principalement sous forme libre, ce qui simplifie les étapes de purification (Li et al., 2025). Les modifications génétiques chez *Phaffia rhodozyma*, telles que la surexpression du facteur de transcription à doigt de zinc (ZFTF), permettent d’augmenter significativement le rendement en astaxanthine. Toutefois, les études récentes soulignent que l’optimisation de la voie de synthèse (équilibre des

précurseurs, modulation enzymatique) reste le paramètre clé pour maximiser la productivité (Jia *et al.*, 2024).

Cette levure se distingue par un taux de croissance élevé (doublement en 6–8 heures) et une capacité à accumuler de la biomasse en conditions hétérotrophes, sans exigence lumineuse. Elle utilise efficacement des substrats peu coûteux comme la mélasse ou le glucose, avec des rendements atteignant 23,8 mg/L en culture fed-batch optimisée (pH 6,0, 19,7 °C, 11,25 g/L de carbone). Ces caractéristiques en font un candidat industriel de choix pour produire de l'astaxanthine de qualité commerciale, notamment sous forme libre, plus facile à purifier que les formes estérifiées des microalgues (Ramírez *et al.*, 2001 ; Ramírez *et al.*, 2006 ; Khandual *et al.*, 2019).

II.4.1.3. *Paracoccus carotinifaciens*

Paracoccus carotinifaciens, une bactérie Gram-négative aérobie isolée du sol, se distingue comme l'un des rares microorganismes capables de biosynthétiser naturellement de l'astaxanthine libre (3S,3'S), représentant jusqu'à 60 % de ses caroténoïdes totaux selon les conditions de culture (Langi *et al.*, 2018 ; Misawa, 2021). Outre l'astaxanthine, elle produit des caroténoïdes secondaires tels que l'adonirubine, la canthaxanthine et l'adonixanthine, qui contribuent à son profil antioxydant unique (Hayashi *et al.*, 2021 ; Nuntapong *et al.*, 2022).

Contrairement à d'autres sources comme *Haematococcus pluvialis*, où l'astaxanthine est majoritairement estérifiée, celle produite par *P. carotinifaciens* est non estérifiée, ce qui simplifie son extraction et améliore sa biodisponibilité. Cette particularité, combinée à un temps de culture court (24–48 heures), des besoins nutritionnels réduits et une paroi cellulaire fine, en fait un microorganisme prometteur pour les bioraffineries durables (Katsumata *et al.*, 2014 ; Sapone *et al.*, 2021 ; Paz *et al.*, 2024).

Des optimisations telles que l'utilisation de substrats peu coûteux (glucose ou mélasse) et l'ajout d'ions métalliques (Fe²⁺) permettent d'améliorer les rendements en astaxanthine. De plus, des techniques de mutagenèse chimique ou UV ont permis d'atteindre des rendements élevés sans recours au génie génétique. Grâce à ses caractéristiques uniques et à ses applications dans des domaines comme l'aquaculture (pigmentation des saumons et

crevettes) et la nutrition humaine (antioxydant naturel), *P. carotinifaciens* s'impose comme une solution durable pour répondre à la demande croissante en astaxanthine naturelle sur le marché mondial (Kanwugu et al., 2020 ; Choi et al., 2021 ; Hayashi et al., 2021 ; Mussagy et Dufossé, 2023).

II.4.2. Poissons et crustacés

L'astaxanthine chez les crustacés provient principalement de deux sources : l'alimentation directe, par la consommation d'organismes producteurs comme les microalgues, ou la bioconversion de caroténoïdes ingérés tels que le β -carotène, la lutéine et la zéaxanthine. Cette bioconversion est réalisée grâce à des enzymes spécifiques, comme la β -carotène hydroxylase et la β -carotène kétolase, permettant aux crustacés de synthétiser de l'astaxanthine sous forme libre ou estérifiée avec des acides gras (mono- ou diesters). Ces formes influencent la stabilité chimique et la biodisponibilité de l'astaxanthine dans les tissus des crustacés (Martin et al., 2008 ; Weaver et al., 2017 ; Rebelo et al., 2020 ; Šimat et al., 2022 ; chen et al., 2024).

Chez les salmonidés, l'astaxanthine est un pigment essentiel qui s'accumule dans la chair, avec des teneurs variant selon l'espèce et le mode d'élevage (Raza et al., 2021). Par exemple, le saumon rouge sauvage (*Oncorhynchus nerka*) contient jusqu'à 38 mg/kg d'astaxanthine dans sa chair (Shuhan et al., 2022), tandis que la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) d'élevage présente des concentrations allant de 12 à 25 mg/kg (Meng et al., 2024). En comparaison, le saumon atlantique (*Salmo salar*) affiche des teneurs plus faibles, entre 1 et 9 mg/kg en élevage et 3 à 10 mg/kg pour les populations sauvages (Johnston et al., 2000 ; Ytrestøyl et al., 2025).

Chez les crustacés, l'astaxanthine est souvent liée à des protéines pour former des complexes spécifiques, dont le plus étudié est la crustacyanine. Ce complexe protéique, composé de sous-unités de lipocalines, se lie à l'astaxanthine et modifie sa couleur via un déplacement bathochromique (changement de longueur d'onde d'absorption). Par exemple, chez le homard (*Homarus americanus*), la crustacyanine est responsable de la coloration bleue de la carapace, qui devient rouge à la cuisson en raison de la dénaturation des protéines et de la libération de l'astaxanthine libre (Ferrari et al., 2012 ; Stachowiak et Szulc, 2021 ; Han et al., 2024).

Les œufs de homard contiennent de l'astaxanthine sous forme liée à des lipoglycoprotéines, un complexe similaire à la crustacyanine mais adapté aux besoins développementaux. Ces complexes stabilisent l'astaxanthine, protégeant les embryons des dommages oxydatifs et des UV (Cheong et Muskhazli, 2020 ; Weaver *et al.*, 2022).

Les crevettes représentent une source alimentaire importante d'astaxanthine, avec des pigments concentrés principalement dans le céphalothorax, la couche épidermique abdominale et l'exosquelette. Ces parties anatomiques, souvent considérées comme des sous-produits de transformation, contiennent des concentrations élevées d'astaxanthine, ce qui en fait une ressource précieuse pour l'extraction industrielle (Seabra et Pedrosa, 2010 ; Šimat *et al.*, 2022 ; Dayakar *et al.*, 2024).

II.5. Propriétés biologiques

II.5.1. Activité antioxydante

Le stress oxydatif, causé par les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les radicaux libres, est un phénomène biologique qui peut endommager les membranes cellulaires, les protéines et l'ADN. Il peut être inhibé par des antioxydants endogènes, tels que la superoxyde dismutase et la catalase, ainsi que par des antioxydants exogènes, comme l'astaxanthine. Ce caroténoïde naturel est reconnu pour son efficacité exceptionnelle dans la neutralisation des ROS grâce à ses propriétés chimiques uniques (Šimat *et al.*, 2022 ; Chaudhary *et al.*, 2023 ; Shastak *et al.*, 2023).

L'astaxanthine agit en piégeant directement les ROS (oxygène singulet, peroxy-nitrite) et d'autres espèces réactives (soufre et carbone) en leur cédant des électrons. Ce mécanisme permet de former des produits stables et non réactifs, réduisant ainsi les dommages oxydatifs au niveau cellulaire (Pereira *et al.*, 2021). Comparée à d'autres antioxydants, l'astaxanthine présente une activité supérieure : elle est 6 000 fois plus efficace que la vitamine C, 110 fois plus puissante que la vitamine E et 10 fois plus performante que le β -carotène (Miao *et al.*, 2019 ; Donoso *et al.*, 2021 ; Patil *et al.*, 2022 ; Rivera-Hernández *et al.*, 2025).

Cette puissance antioxydante s'explique par sa structure moléculaire unique. L'astaxanthine possède des groupes hydroxyle (-OH) et cétone (C=O) sur chaque cycle

ionone, ce qui lui permet de neutraliser efficacement les ROS via stabilisation par résonance. Sa configuration polaire-apolaire-polaire lui permet également de s'intégrer dans les membranes cellulaires, protégeant simultanément les régions hydrophiles et hydrophobes des dommages oxydatifs (Kumar *et al.*, 2022). Contrairement à d'autres antioxydants, l'astaxanthine ne devient jamais pro-oxydante, même à fortes doses, et agit simultanément sur jusqu'à 19 radicaux libres, offrant une protection cellulaire complète (Capelli et Cysewski, 2007 ; Shao et America, 2017 ; Yoshihara *et al.*, 2019).

En outre, l'astaxanthine traverse facilement les barrières hémato-encéphalique et hémorétinienne, ce qui lui permet de protéger le cerveau et les yeux contre le stress oxydatif. Ces propriétés en font un antioxydant clé pour lutter contre le vieillissement cellulaire ainsi que pour prévenir des maladies liées au stress oxydatif, telles que les maladies neurodégénératives ou cardiovasculaires (Fassett *et al.*, 2009 ; Si et Zhu, 2022 ; wang *et al.*, 2024 ; Lotfi *et al.*, 2024).

La chaîne polyénique de l'astaxanthine est capable de piéger les radicaux libres au sein de la membrane cellulaire, tandis que les anneaux terminaux neutralisent les radicaux à la fois à la surface et à l'intérieur de la bicouche phospholipidique. Des études suggèrent que l'atome d'hydrogène au niveau de la méthine C3 des anneaux terminaux constitue un site clé de piégeage des radicaux libres, renforçant son activité antioxydante (Goto *et al.*, 2001 ; Ambati *et al.*, 2001 ; Yamashita *et al.*, 2013 ; Kumar *et al.*, 2022).

II.5.2. Activité anti-inflammatoire

L'astaxanthine est un puissant anti-inflammatoire qui peut réduire la production de régulateurs inflammatoires. Elle a la capacité d'inhiber l'expression des cytokines et des enzymes telles que la cyclooxygénase-2 (COX-2) et l'oxyde nitrique synthase inducible (iNOS), sécrétées par les cellules immunitaires microgliales BV-2 résidentes du système nerveux central. Ces cellules sont activées par des endotoxines, précisément les lipopolysaccharides (LPS) présents sur la membrane des bactéries Gram négatives (Choi *et al.*, 2008 ; Chang *et al.*, 2020 ; Kohandel *et al.*, 2022 ; Zhao *et al.*, 2024).

Des études ont démontré que le traitement à l'astaxanthine contribue à la fois à la réduction de la libération de différentes molécules inflammatoires au niveau des cellules

gliales stimulées, et également à la modulation de la libération de facteurs apoptotiques depuis la membrane mitochondriale (Faraone *et al.*, 2020 ; Chang et Xiong, 2020 ; Si et Zhu, 2022 ; Lotfi *et al.*, 2024 ; Nguyen *et al.*, 2025). Cette double action s'explique en partie par la structure unique de l'astaxanthine qui, comme le montre la [figure 8](#), peut s'intégrer transversalement dans la bicouche lipidique des membranes cellulaires. Contrairement à la vitamine C (hydrophile) ou au β -carotène (lipophile), l'astaxanthine protège simultanément les régions hydrophiles et hydrophobes des membranes, optimisant ainsi son effet anti-inflammatoire (Patil *et al.*, 2022).

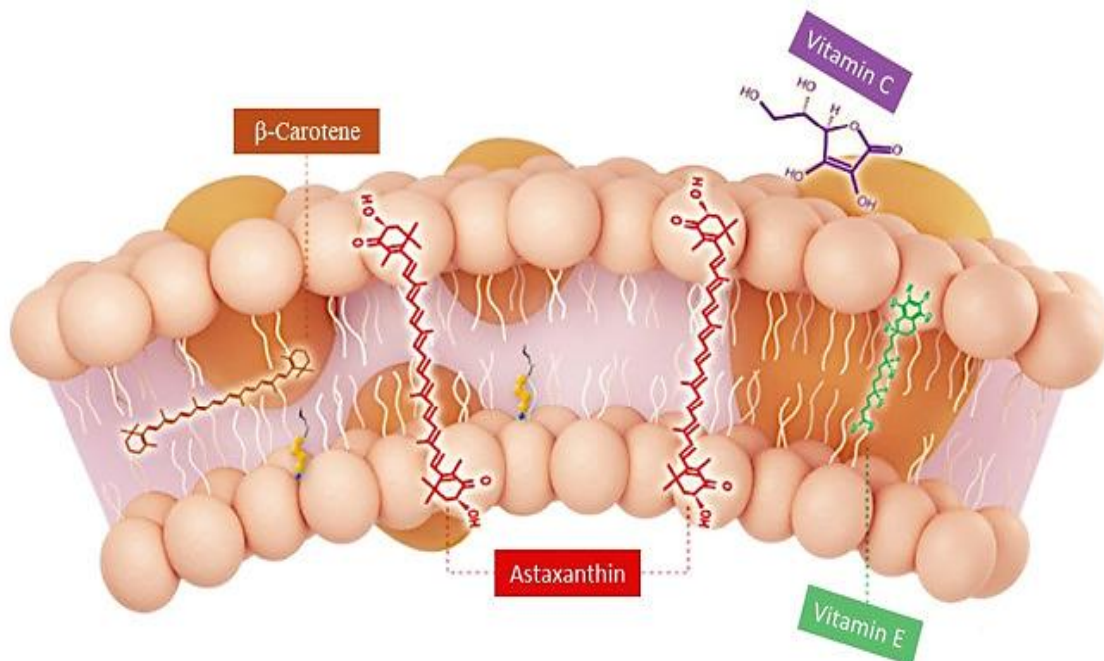


Figure 8 : Orientation transmembranaire de l'astaxanthine, β -carotene, vitamine C et vitamine E (Patil *et al.*, 2022).

Une étude *in vivo* sur des rats diabétiques induits par streptozotocine a démontré que l'astaxanthine exerce un effet anti-inflammatoire puissant, caractérisé par une réduction significative de l'expression de protéines inflammatoires telles que la COX-2 et l'iNOS, ainsi que diverses cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-1 β , l'IL-6 et le TNF- α . Ces effets s'accompagnent d'une amélioration notable des paramètres métaboliques, notamment une diminution du glucose et du cholestérol sanguin, associée à une augmentation des lipoprotéines de haute densité (HDL) (Chang et Xiong, 2020).

II.5.3. Activité anticancéreuse

De nombreuses études ont démontré l'efficacité de l'astaxanthine contre diverses lignées de cellules cancéreuses. Ce caroténoïde inhibe spécifiquement le développement des cellules cancéreuses (du sein, des fibrosarcomes, des mélanomes, des cancers de la prostate et des cellules hépatiques cancéreuses), en induisant l'apoptose, en inhibant la métastase et en perturbant la croissance cellulaire. Les études *in vitro* et *in vivo* soulignent l'efficacité de l'AXT pour sensibiliser les cellules cancéreuses à la chimiothérapie et réduire la progression tumorale. Par ailleurs, il réduit significativement la prolifération des tumeurs mammaires chez les modèles murins, tant chez les souris que chez les rats, indépendamment du sexe (Fakhri et al., 2018 ; Sun et al., 2020 ; Shokrian-Zeini et al., 2024 ; Copat et al., 2025).

L'astaxanthine démontre une activité anticancéreuse dose-dépendante : à une concentration de 25 µg/ml, elle peut réduire jusqu'à 50 % la viabilité cellulaire des cellules cancéreuses colorectales (HT-29) ainsi que des cellules de cancer gastrique (AGS). De plus, à des concentrations comprises entre 13 et 84 µM, l'astaxanthine inhibe efficacement la prolifération des cellules cancéreuses œsophagiennes des lignées TE-1 et TE-4 (Kim et al., 2016 ; Kim et al., 2019 ; Faraone et al., 2020).

L'astaxanthine démontre une activité antitumorale significativement supérieure à d'autres caroténoïdes, tels que le β-carotène et la canthaxanthine. Elle inhibe efficacement le développement des cellules cancéreuses du côlon humain en limitant la progression tumorale (Fakhri et al., 2018 ; Kim et al., 2019 ; Copat et al., 2025). Cette efficacité exceptionnelle s'explique en partie par sa disposition unique dans la membrane cellulaire. Contrairement au β-carotène (qui se localise uniquement dans la région hydrophobe des queues d'acides gras) ou à la vitamine C (confinée à l'espace extracellulaire), l'astaxanthine traverse entièrement la bicouche lipidique, avec ses groupements polaires ancrés dans les régions hydrophiles des deux côtés de la membrane. Cette configuration transmembranaire optimise sa capacité à neutraliser les espèces réactives de l'oxygène impliquées dans la carcinogenèse (Patil et al., 2022).

Dans une étude comparative, Zhang et Wang (2015) ont évalué l'effet de différents caroténoïdes (astaxanthine, β-carotène, capsanthine et bixine) à faibles concentrations (5 et 10 µM) sur la croissance des cellules leucémiques humaines. Leurs résultats ont démontré

que l'astaxanthine était l'inhibiteur le plus puissant, suivie par la bixine. À une concentration de 10 μ M, l'astaxanthine inhibait significativement la prolifération cellulaire en induisant l'apoptose via l'activation des caspases et la modulation des voies de signalisation impliquées dans la survie cellulaire.

II.5.4. Activité antidiabétique

Le stress oxydatif induit par l'hyperglycémie chronique joue un rôle central dans le dysfonctionnement des cellules bêta du pancréas chez les patients atteints de diabète sucré, en perturbant la sécrétion d'insuline et en exacerbant la résistance à cette hormone. Des études ont montré que l'astaxanthine, un puissant antioxydant naturel, est capable d'améliorer la tolérance au glucose, d'augmenter les concentrations d'insuline sérique et de réduire la glycémie (Suganya *et al.*, 2017 ; Mojiri-Forushani *et al.*, 2014 ; Taghiyar *et al.*, 2023).

De plus, le diabète s'accompagne d'une diminution de l'activité des principales enzymes antioxydantes, telles que la glutathion peroxydase, la superoxyde dismutase et la réductase. L'administration d'antioxydants comme l'astaxanthine permet de contrer ces effets délétères en restaurant l'activité enzymatique antioxydante (Fakhri *et al.*, 2018).

Une étude a été menée sur un groupe de rats nourris pendant deux mois avec un régime supplémenté en astaxanthine naturelle à des doses de 25, 50 et 100 mg/kg, ainsi que sur un groupe de souris ayant reçu pendant 45 jours un régime riche en graisses et en fructose (HFFD) additionné d'astaxanthine à raison de 6 mg/kg. Les résultats ont montré que les indices d'évaluation de la résistance à l'insuline (HOMA) étaient significativement plus faibles chez les rats et les souris traités à l'astaxanthine, comparativement aux groupes témoins et aux souris nourries uniquement au HFFD. Ces observations suggèrent que l'astaxanthine améliore la sensibilité à l'insuline chez les animaux soumis à ces régimes, mettant en avant son potentiel bénéfique dans la prévention des troubles métaboliques liés à la résistance à l'insuline (Visioli *et Artaria*, 2017).

Des études cliniques et *in vivo* révèlent que l'astaxanthine module l'activité de l'AMPK (protéine kinase activée par l'AMP) et de la SIRT1, deux régulateurs clés du métabolisme du glucose et des acides gras, favorisant ainsi une meilleure utilisation du glucose par les muscles et une réduction de la résistance à l'insuline (Taghiyar *et al.*, 2023).

Parallèlement, ce caroténoïde exerce un effet cytoprotecteur sur les cellules bêta pancréatiques en neutralisant deux facteurs majeurs de leur dysfonctionnement : le stress oxydatif et l'accumulation de produits de glycation avancée (AGE). Cette action prévient l'apoptose cellulaire et préserve ainsi la capacité de sécrétion insulinaire, même dans des conditions hyperglycémiques (Hirakida et al., 2022). Ces mécanismes synergiques – régulation métabolique et protection cellulaire – positionnent l'astaxanthine comme une molécule pléiotrope prometteuse dans la gestion intégrée du diabète.

II.5.5. Astaxanthine et maladies cardiovasculaires

L'astaxanthine joue un rôle prometteur dans la prévention et la gestion des maladies cardiovasculaires, principalement grâce à ses puissantes propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires, ainsi qu'à sa capacité à réguler le métabolisme des lipides et du glucose et à maintenir la fluidité sanguine (Pereira et al., 2021 ; Sarker et al., 2024 ; Abd-Elkareem et al., 2025).

Ce caroténoïde exerce un effet protecteur sur le système cardiovasculaire en atténuant les effets délétères de l'homocystéine sur le cœur et en restaurant l'activité des enzymes impliquées dans la défense contre le stress oxydatif. De plus, l'astaxanthine contribue à la réduction des taux plasmatiques de cholestérol total et de triglycérides, des facteurs de risque majeurs des maladies cardiovasculaires (Panagiotakopoulos et Nasopoulou, 2024 ; Arczewski et al., 2025 ; Zhong et al., 2025).

Par ailleurs, l'astaxanthine améliore la fluidité sanguine et présente des effets antihypertenseurs par deux mécanismes principaux : elle normalise la sensibilité des adrénocéphes et rétablit le rythme vasculaire en atténuant la vasoconstriction induite par les espèces réactives de l'oxygène (Pereira et al., 2021 ; Kumar et al., 2022 ; Aijaz et Kumar, 2025). Dans le but d'évaluer l'effet de l'astaxanthine sur le système cardiovasculaire, des rats spontanément hypertendus ont reçu de l'astaxanthine par voie orale, après 14 jours la pression artérielle (PA) a été réduite (Fassett et Coombes, 2011).

Enfin, l'astaxanthine se distingue par sa capacité à réduire l'oxydation des lipoprotéines de basse densité (LDL) chez l'homme, un processus clé dans le développement de l'athérosclérose. Cette action est supérieure à celle d'autres antioxydants tels que la

vitamine E (α -tocophérol) et la lutéine (Pashkow et al., 2008 ; Ciaraldi et al., 2023 ; Jabarpour et al., 2024). Ainsi, l'astaxanthine apparaît comme un agent naturel prometteur pour la protection cardiovasculaire, agissant à la fois sur les facteurs de risque et sur les mécanismes physiopathologiques des maladies cardiovasculaires.

II.5.6. Astaxanthine et système immunitaire

L'astaxanthine peut renforcer la réponse immunitaire non spécifique chez les animaux aquatiques en stimulant l'activité des effecteurs immunitaires tels que la lysozyme (Lyz) et les composants du complément C3 et C4. Ces facteurs contribuent de manière synergique à une meilleure reconnaissance et élimination des agents pathogènes, renforçant ainsi l'immunité innée (Peng et al., 2025).

Cette molécule joue un rôle clé dans le renforcement du système immunitaire en stimulant la production d'anticorps, notamment les immunoglobulines IgM, IgG et IgA. Des études ont démontré que l'astaxanthine active les réponses immunitaires humorales et cellulaires, tout en régulant les réponses lymphocytaires *in vitro*. Elle favorise également la production de cytokines essentielles telles que l'interféron gamma (INF- γ) et l'interleukine 2 (IL-2), sans induire de cytotoxicité, ce qui en fait un agent immunomodulateur sûr et efficace (Fakhri et al., 2018 ; Eldessouki et al., 2024 ; Peng et al., 2025).

Dans une étude menée par Park et al. (2010), il a été démontré que l'astaxanthine augmente l'activité cytotoxique des cellules NK (Natural Killer), qui jouent un rôle crucial dans la surveillance immunitaire contre les tumeurs et les cellules infectées par des virus. De plus, elle améliore la réponse d'hypersensibilité retardée (DTH) à la tuberculine, un test clinique fiable pour évaluer la fonction des cellules T *in vivo*. Après huit semaines de supplémentation en astaxanthine, une amélioration significative de cette réponse a été observée suite à une injection cutanée de tuberculine.

L'astaxanthine a également montré des effets bénéfiques chez les patients atteints de dermatite atopique modérée. Une étude réalisée par Satoh (2016) a révélé qu'un traitement de quatre semaines avec de l'astaxanthine améliorait le rapport Th1/Th2, un indicateur clé de la fonction immunitaire, tout en réduisant le stress oxydatif lié à cette maladie inflammatoire chronique. Aucun effet secondaire n'a été observé, ce qui souligne son

potentiel comme option thérapeutique sûre. Grâce à ses propriétés immunorégulatrices, l'astaxanthine peut atténuer la gravité de la dermatite atopique sur le long terme.

III. Tilapia “*Oreochromis sp.*”

III.1. Généralités

Le tilapia (*Oreochromis sp.*) est un poisson omnivore apprécié pour sa chair de qualité, sa richesse nutritionnelle, sa croissance rapide et sa bonne résistance aux maladies (Sun et al., 2022 ; Kang et al., 2023 ; Martinez-Porchas et al., 2023). Cette espèce est largement répandue dans le monde car il s'adapte facilement à divers environnements et supporte bien les conditions stressantes (Situmorang et al., 2014 ; Panigoro et al., 2024).

Représentant une part importante de l'aquaculture mondiale, le tilapia contribue significativement à la sécurité alimentaire, notamment dans les pays en développement, en fournissant une source de protéines accessible et nutritive (Sathishkumar et al., 2021 ; Kang et al., 2023 ; Ou et al., 2024). La demande mondiale pour ce poisson d'élevage est en forte progression, le plaçant au second rang des poissons d'eau douce commercialisés, juste après la truite (Ou et al., 2024 ; Antonio-Estrada et al., 2024).

Le tilapia rouge est un hybride de tilapia qui a été développé à Taïwan à la fin des années 1960. Il résulte du croisement entre une femelle mutante à coloration orange-rougeâtre d'*Oreochromis mossambicus* et un mâle normal d'*Oreochromis niloticus* (Mohamad et al., 2021 ; Webster et Lim, 2024). Par la suite, ce tilapia rouge a été introduit dans de nombreuses régions tropicales, subtropicales et tempérées, notamment en Asie, en Amérique du Nord et en Amérique du Sud, où il est devenu une espèce d'élevage très prisée.

Ce croisement initial a donné naissance à une souche qui combine la coloration attrayante et la robustesse des espèces parentales, ce qui a favorisé son adoption rapide dans l'aquaculture mondiale. D'autres variantes de tilapia rouge ont également été développées, comme la souche floridienne issue d'un croisement entre une femelle *O. urolepis* de couleur normale et un mâle *O. mossambicus* rouge-doré. Ces différentes lignées témoignent de la diversité génétique exploitée pour améliorer les performances d'élevage et l'adaptation à divers environnements (Kurniasih, 2024 ; Abdel-Rahim et al., 2024).

III.2. Taxonomie

Le terme « tilapia » trouve son origine dans le mot africain Bushman, qui signifie « poisson ». Les tilapias regroupent un grand nombre d'espèces de poissons d'eau douce appartenant à la famille des Cichlidae. Cette famille est l'une des quatre principales (avec Embiotocidae, Pomacentridae et Labridae) qui composent le sous-ordre Labroidei (El-Sayed, 2020).

Malgré la description de plus de 70 espèces de tilapia, la question de leur classification en espèces véritablement distinctes demeure très controversée. La taxonomie du tilapia reste confuse et en constante évolution, principalement en raison de la similitude et du chevauchement de leurs caractéristiques morphologiques. De plus, de nombreuses espèces de tilapia s'hybrident librement dans la nature, ce qui complique davantage leur identification précise (Lovshin, 2000 ; Nwachi et al., 2020 ; El-Sayed, 2020 ; Bardhan et al., 2021).

Selon Froese et Pauly (2018), le genre *Oreochromis* comprend 32 espèces, tandis que le genre *Sarotherodon* en regroupe 13. Cependant, la majorité des taxonomistes et des chercheurs continuent d'utiliser l'ancien genre *Tilapia* pour désigner l'ensemble des espèces de tilapia, ce qui témoigne de l'incertitude persistante dans la classification de ces poissons. Selon Bowman et Abele (1982), la classification taxonomique du tilapia se décrit comme suit :

Royaume : Animalia

Embranchement : Chordata

Sous-embranchement : Vertébrés

Classe : Actinoptérygii

Sous-classe : Néoptérygii

Ordre : Perciformes

Sous-Ordre : Labroidei

Famille : Cichlidae

Sous-Famille : Pseudocrenilabrinae

Genre : *Oreochromis*

Espèce : *Oreochromis Sp*

III.3. Caractéristiques morphologiques

L'étude morphométrique des poissons constitue une méthode simple et directe pour l'identification des espèces. Chez le tilapia, la taille et la forme du corps sont des critères essentiels, souvent plus déterminants que l'âge pour caractériser les individus (Kosai et al., 2014).

La silhouette du tilapia rappelle celle du poisson-lune ou de la marigane, mais il se distingue facilement par sa ligne latérale discontinue, une caractéristique typique de la famille des cichlidés. Le tilapia possède une nageoire dorsale longue et un corps comprimé latéralement. En avant de la nageoire dorsale, on observe de nombreuses épines pointues. De plus, les extrémités des nageoires pelviennes et pectorales sont munies de rayons fins et tranchants, souvent comparés à des rasoirs (figure 9). Chez les juvéniles, et parfois même chez certains adultes, des bandes verticales larges et bien marquées ornent le corps, facilitant leur identification (Vajargah, 2021).

Le tilapia possède des yeux relativement grands et des narines bien développées. Ce poisson a également la capacité de modifier sa coloration en réponse aux variations des conditions environnementales (El-Sayed, 2020).



Figure 9: Tilapia rouge (*Oreochromis* sp.) (Nicholson et al., 2018).

III.4. Habitat et répartition géographique

Les tilapias ont été introduits en Afrique, en Asie et en Amérique, et sont devenus une partie de la faune piscicole de nombreux environnements d'eau douce (El-Sayed, 2020). Leur répartition naturelle couvre une vaste zone du continent africain, allant de la province nilo-soudanienne à la vallée du Rift éthiopienne, en passant par la province du Kivu, le nord du lac Tanganyika (Ruzizi) et la partie nord de la vallée du Rift en Afrique de l'Est (figure 10) (Bezault et al., 2011 ; Mojekwu et Hoareau, 2024). En dehors de l'Afrique, à l'exception du nord de l'Atlas et du sud-ouest du continent, les tilapias sont également présents en Amérique du Sud et centrale, dans le sud de l'Inde, au Sri Lanka (El-Sayed, 2020).

Le tilapia se distingue par sa grande robustesse et sa capacité de production élevée. Il peut vivre et être élevé dans pratiquement tous les types d'eaux disponibles, certaines espèces étant même capables de s'adapter aux eaux saumâtres ou salines (Lazard, 2007 ; Dergal, 2015 ; Yue et al., 2024). En tant que poisson euryhalin, il tolère une large gamme de salinités et résiste aux conditions anoxiques, ce qui lui permet de coloniser une grande variété d'habitats : des petites rivières forestières aux grands bassins versants et lacs, en passant par les bassins alcalins et les sources d'eau chaude (Bezault et al., 2011 ; Yue et al., 2024 ; Watanabe et al., 2024 ; Yu et al., 2025).

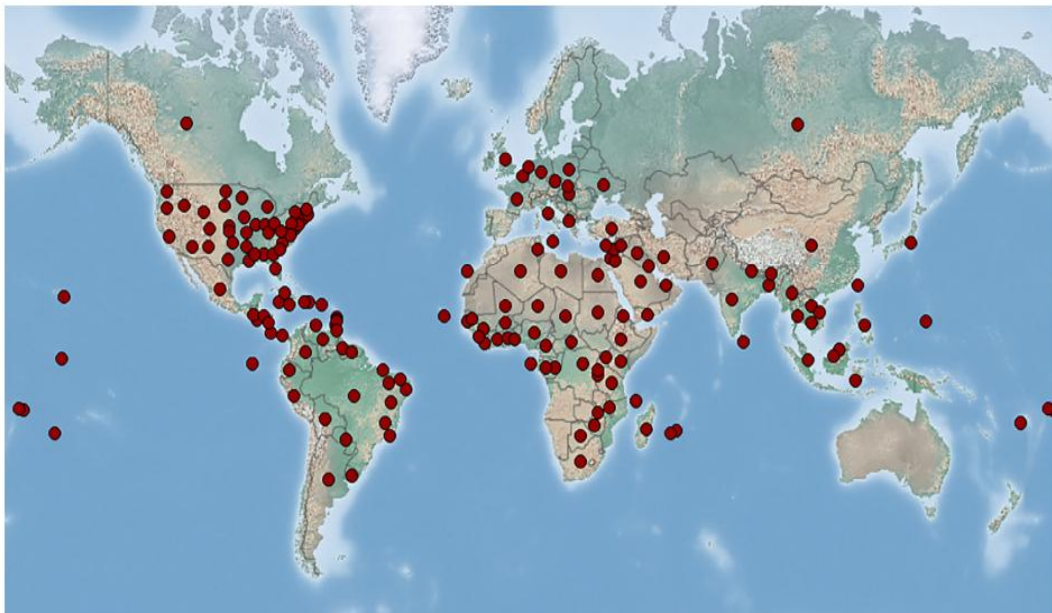


Figure 10 : Répartition géographique du tilapia au monde (El-Sayed et Fitzsimmons, 2023).

L'établissement, la propagation et l'intégration du tilapia dans de nouveaux écosystèmes sont facilités par sa tolérance environnementale, sa remarquable flexibilité, ses caractéristiques reproductives particulières et son comportement parfois agressif envers d'autres espèces de poissons ([Ishikawa et al., 2012](#) ; [Younis et al., 2025](#)). Ces atouts expliquent en grande partie le succès de son expansion mondiale.

III.5. Reproduction

Chez le tilapia, la reproduction est caractérisée par un comportement de polygamie où un mâle peut féconder plusieurs femelles. Après une courte période de reproduction, la femelle pond ses œufs, qui sont ensuite fécondés par le mâle. Immédiatement après la fécondation, la femelle recueille les œufs dans sa bouche, où elle les incube jusqu'à l'éclosion. Les alevins nouvellement éclos restent protégés dans la bouche maternelle jusqu'à ce qu'ils aient absorbé entièrement leur sac vitellin et soient capables de se nourrir de façon autonome dans leur environnement ([Vajargah, 2021](#)).

Le tilapia est une espèce thermosensible, la température de l'eau jouant un rôle déterminant dans la répartition des sexes et le processus de différenciation ovarienne ([Bardhan et al., 2021](#)). À des températures élevées, la proportion de mâles tend à augmenter, tandis qu'à des températures plus basses, le rapport mâle/femelle diminue. Cependant, même à des températures extrêmes, la formation de populations entièrement monosexuées reste rare ([Fuentes-Silva, 2013](#)). La température optimale pour la reproduction et la croissance varie selon les espèces : elle se situe entre 25 et 30 °C pour le tilapia du Nil, entre 25 et 35 °C pour le tilapia bleu, et entre 22 et 25 °C pour le tilapia du Mozambique ([Webster, 2024](#)).

III.6. Habitudes alimentaires

La classification alimentaire du tilapia varie selon les études, certains auteurs le décrivant comme omnivore, d'autres comme principalement herbivore. Les juvéniles se nourrissent essentiellement de larves, de zooplancton et d'autres micro-organismes, tandis que les adultes consomment surtout des algues vertes et des diatomées ([Assefa, 2015](#) ; [Tesfaye et al., 2020](#) ; [Cao et al., 2024](#)). Les tilapias sont capables d'absorber entre 30 et 60 %

des protéines présentes dans les algues, ce qui contribue à leur croissance rapide et à leur efficacité alimentaire ([Vajargah, 2021](#)).

Le régime alimentaire du tilapia dépend également de la profondeur de l'habitat. Les individus vivant dans les zones littorales se nourrissent fréquemment d'algues, de détritus et de bactéries, alors que ceux évoluant dans des eaux plus profondes consomment principalement un mélange de phytoplancton précipité et de matières organiques en décomposition ([El-Sayed, 2020](#)).

Divers facteurs influencent la croissance et la productivité du tilapia, notamment le type d'aliment, la taille des rations et la fréquence des repas. Une augmentation de la fréquence d'alimentation tend à réduire les comportements agressifs, favorise une croissance plus homogène et rapide, et peut également améliorer la composition corporelle ainsi que la qualité de l'eau du système d'élevage ([Abd El-Hack et al., 2022](#)).

De manière générale, les tilapias exploitent efficacement la nourriture naturelle disponible dans leur environnement. Il est ainsi possible d'atteindre des rendements élevés, jusqu'à 2 700 kg de poissons par hectare d'étang, simplement en fertilisant l'eau pour stimuler la production naturelle, sans recourir à des aliments supplémentaires ([Vajargah, 2021](#)).

Chapitre II :

Matériels et Méthodes

Chapitre II : Matériels et Méthodes

1. Préparation de la farine des sous-produits de crevettes

Les sous-produits de crevettes *Aristeus antennatus*, comprenant les têtes, carapaces et queues ([figure 11](#)), ont été collectés auprès de pêcheries situées à Mostaganem (Algérie) en octobre 2022. Ces déchets ont été transportés au laboratoire dans une glacière afin de garantir leur conservation. À leur arrivée, ils ont été rigoureusement lavés à plusieurs reprises à l'eau du robinet afin d'éliminer les impuretés et résidus. Par la suite, les déchets nettoyés ont été lyophilisés, puis broyés à l'aide d'un broyeur mécanique. La farine obtenue ([figure 12](#)) a été tamisée pour obtenir une granulométrie homogène d'environ 0.5 mm, puis stockée à -4 °C dans des contenants hermétiques jusqu'à leur utilisation.



Figure 11 : Sous-produits de crevettes rouges **Figure 12 : Farine des sous-produits de crevettes**

2. Caractérisation de la farine des sous-produits de crevettes

2.1. Teneur en eau

La teneur en eau a été déterminée conformément à la méthode [AOAC \(1990\)](#). Cinq grammes de poudre issue des sous-produits de crevette ont été déposés dans un récipient en verre préalablement pesé, puis séchés dans une étuve à 105 °C pendant 24 heures. Après dessiccation, le récipient contenant l'échantillon a été de nouveau pesé, et le pourcentage d'humidité a été calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{Teneur en eau (\%)} = (m_1 - m_0) / (m_1 - m_2) \times 100$$

m_0 : masse du récipient vide (g)

m_1 : masse du récipient avec l'échantillon avant séchage (g)

m_2 : masse du récipient avec l'échantillon après séchage (g)

2.2. Teneur en cendres

La détermination du taux de cendres a été réalisée conformément à la méthode [AOAC \(2000\)](#). Le dosage des cendres repose sur la calcination de l'échantillon étudié. Cinq grammes de poudre issue des sous-produits de crevette ont été placés dans un creuset, puis introduits dans un four à moufle à 550 °C pendant 5 heures. Après la combustion totale de l'échantillon, le résidu a été transféré dans un dessiccateur, puis pesé. Le taux de cendres a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Taux des cendres (\%)} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100$$

m_0 est la masse du creuset d'incinération vide (g) ;

m_1 est la masse du creuset avec l'échantillon avant incinération (g) ;

m_2 est la masse du creuset avec l'échantillon après incinération (g).

2.3. Protéines

La méthode de Kjeldahl permet de déterminer la teneur en protéines d'un échantillon en mesurant le pourcentage d'azote total, selon la norme [\(AOAC, 2012\)](#). Cette méthode comporte trois étapes principales : digestion, distillation, et titration. Une masse de 1 g de poudre issue des sous-produits de crevettes a été mélangée à 20 mL d'acide sulfurique concentré (97%). La température a été maintenue initialement à 100 °C, puis progressivement augmentée jusqu'à 450 °C, où elle a été stabilisée pendant une heure. La digestion a été considérée terminée lorsque la solution est devenue vert pâle. Les tubes ont ensuite été retirés du bloc chauffant et laissés à refroidir pendant 15 minutes avant d'entamer la phase de distillation.

Le sulfate d'ammonium formé est dilué avec de l'eau, puis converti en ammoniac (NH_3) par addition de NaOH à 32%. Dans l'unité de distillation, le gaz ammoniac est condensé sous forme d'ammonium et piégé dans une solution réceptrice d'acide borique (H_3BO_3) à 4%, ajustée à un pH de 4.65. La formation du complexe $\text{NH}_4\text{B}(\text{OH})_4$ résulte de l'interaction entre l'ammonium et l'acide borique.

Pour estimer la teneur en azote total, une titration a été réalisée avec une solution d'acide chlorhydrique (HCl) 0.1 N en présence de bleu de méthylène comme indicateur, jusqu'à l'obtention d'un changement de couleur, passant du vert au rose. La quantité d'azote totale a ensuite été calculée à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{Teneur en azote (\%)} = \frac{(V_1 - V_2) \times F \times c \times f \times M(\text{N})}{m \times 1000} \times 100$$

V_1 : volume (mL) de solution d'acide chlorhydrique consommé pour titrer l'échantillon

V_2 : volume (mL) de solution d'acide chlorhydrique consommé pour titrer le blanc

C: concentration de la solution d'HCl (mol/L)

F : facteur de la réaction molaire (généralement 1 pour HCl)

M : masse molaire de l'azote (14.007 g/mol)

m : masse de l'échantillon (g)

La teneur en azote est convertie en teneur en protéines par multiplication au facteur de conversion correspondant ;

$$\text{P\%} = \text{N\%} \times \text{PF}$$

P% : la teneur en protéines

N% : la teneur en azote

PF : facteur de protéines (6.25 pour le poisson)

2.4. Glucides

2.4.1. Calcul des glucides totaux

La concentration en glucides est déterminée par calcul, conformément à la méthode recommandée par l'AOAC (2002), en soustrayant les pourcentages de protéines, de lipides et de cendres de la matière sèche totale. L'équation utilisée est la suivante :

$$\text{Glucides (\% ms)} = 100 - [\% \text{ protéines} + \% \text{ lipides} + \% \text{ cendres}]$$

Cette méthode indirecte, fréquemment employée dans l'analyse alimentaire, permet d'estimer la teneur totale en glucides, incluant notamment les polysaccharides tels que la chitine et le chitosane présents dans les sous-produits de crevettes.

2.4.2. Identification des sucres par chromatographie en phase liquide couplée à un détecteur Réfractométrie

2.4.2.1. Hydrolyse des sucres

Un échantillon de 0.1 g de poudre issue des sous-produits de crevette a été mélangée à 5 mL de HCl (1.3 M). Après agitation, le mélange a été incubé au bain-marie à 95 °C pendant une heure. Une fois refroidie, un volume de 5 mL de NaOH (1.3 M) a été ajouté à la solution, puis a été transférée dans une fiole jaugée de 50 mL contenant 25 mL d'eau distillée. La préparation a ensuite été centrifugée à 1500 rpm pendant 10 minutes, puis le surnageant a été filtré à l'aide de papier filtre, selon la méthode de (Mkaouar et Kechaou, 2013).

2.4.2.2. Analyse par HPLC-RID

Les monosaccharides ont été analysés à l'aide d'un système de chromatographie liquide haute performance (HPLC) Agilent 1260 Series (Agilent Technologies, USA), équipé d'un autosampler, d'une pompe à gradient à quatre canaux, d'un thermostat de colonne et d'un détecteur à indice de réfraction (RID). La séparation chromatographique a été réalisée sur une colonne analytique Zorbax NH₂ (4.6 × 250 mm, taille de particules de 5

μm) en élution isocratique, avec une phase mobile composée d'acétonitrile : eau (75:25, v/v). Le débit du flux a été maintenu à 1.0 mL/min, avec un volume d'injection de 20 μL .

L'acquisition et le traitement des données ont été effectués à l'aide du logiciel ChemStation (Version B.01). Les monosaccharides ont été identifiés en comparant leurs temps de rétention (R_t) à ceux de standards authentiques. L'analyse quantitative a été réalisée par la méthode de l'étalon externe en utilisant des courbes d'étalonnage dans une plage de concentrations comprise entre 31.25 et 2 000 ppm.

2.5. Dosage des lipides par la méthode de Folch

Les lipides totaux ont été extraits selon la méthode de [Folch \(1957\)](#), basée sur une extraction à froid utilisant un mélange de solvants dans un rapport 2 :1 (v/v) chloroforme-méthanol. Dans ce procédé, le solvant apolaire (chloroforme) solubilise efficacement les lipides dans la phase organique, tandis que le solvant polaire (méthanol) dissout les composants hydrosolubles tels que les protéines et les glucides dans la phase aqueuse.

Quatre grammes de poudre provenant des sous-produits de crevettes ont été mélangés à 20 mL du mélange chloroforme : méthanol (2 :1, v/v), puis soumis à une sonication pendant 20 minutes. Ensuite, 10 mL d'une solution saline de NaCl à 0.73% ont été ajoutés pour induire la formation d'un mélange biphasique, lequel a été centrifugé à 8000 rpm pendant 20 minutes. La phase aqueuse (méthanol et eau) a été éliminée à l'aide d'une pipette Pasteur, tandis que la phase organique inférieure a été filtrée sur du sulfate de magnésium pour éliminer les traces d'eau ([Eymard, 2003](#)).

L'extraction a été répétée une seconde fois, et les extraits lipidiques combinés. Le solvant a ensuite été évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif réglé à 30 °C sous une pression de 162 mbar. Le ballon contenant les lipides résiduels a été pesé afin de calculer la teneur en lipides de la poudre des sous-produits de crevettes, exprimée en mg de lipides par gramme d'échantillon sec.

2.6. Analyse des acides gras

2.6.1. Trans-méthylation

La trans-méthylation, ou estérification à froid, est une technique analytique permettant d'identifier les acides gras en les convertissant en esters méthyliques d'acides gras (EMAG ou FAME), des dérivés plus volatils facilitant leur analyse (Zang *et al.*, 1997). La fraction lipidique obtenue a été soumise à la trans-méthylation. Les esters méthyliques ont été préparés selon la méthode décrite par Ayas *et al.* (2013) avec quelques modifications : les lipides extraits ont été dissous dans 2 mL de n-heptane et 2 mL de solution de KOH méthanolique 2 M. La solution a été homogénéisée, puis centrifugée à 4000 rpm pendant 10 minutes afin d'assurer une bonne séparation des phases. Ensuite, 0.2 mL du surnageant a été transféré dans un vial et dilué avec 1 mL de n-heptane avant l'analyse.

2.6.2. Détermination du profil des acides gras

L'analyse des acides gras a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse équipée d'un détecteur à ionisation de flamme GC-FID (Dani Master GC 1000). La séparation a été effectuée sur une colonne capillaire ZB-WAX Phenomenex (30 m × 0.25 mm de diamètre interne, épaisseur de film 0.25 µm) (Phenomenex, Torrance, CA, États-Unis). Les conditions chromatographiques suivantes ont été appliquées : températures de l'injecteur et du détecteur réglées respectivement à 220 °C et 240 °C ; température du four de la colonne programmée de 130 °C à 200 °C avec un palier de 20 minutes, à un taux de chauffage de 3 °C/min ; hélium utilisé à une vitesse linéaire constante de 30 cm/s. Le volume injecté était de 1 µL, avec un rapport de fractionnement de 1:75.

Le logiciel Clarity Chromatography v4.0.2 a été employé pour l'acquisition et le traitement des données. Les pics chromatographiques ont été identifiés en comparant les temps de rétention aux standards de FAME (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). La quantification des acides gras a été réalisée en calculant le pourcentage relatif des surfaces de pics, les résultats étant exprimés en grammes d'acides gras pour 100 grammes de lipides (Gervasi *et al.*, 2022).

2.7. Dosage des éléments traces métalliques (ETMs)

2.7.1. Digestion acide par voie humide

La minéralisation des échantillons solides constitue une étape cruciale afin de réduire les interférences causées par les matières organiques et d'enrichir la concentration des analytes, ce qui améliore la sensibilité des analyses ultérieures. La méthode de minéralisation par voie humide est actuellement la technique la plus couramment employée pour ce type de préparation.

Un échantillon de 5 g de la poudre des sous-produits de crevettes sont placés dans un bécher de 50 mL, puis combinés avec 5 mL d'acide nitrique concentré (HNO_3 , 65%) et 2 mL de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2 , 30%). La solution est ensuite chauffée sur une plaque chauffante initialement à 90 °C, la température étant ensuite progressivement portée à 120 °C. L'apparition d'une fumée brune signale l'oxydation en cours des composés organiques. les échantillons ont été complétés à 50 ml avec de l'eau distillée et filtrés par la suite ([Peters, 2003](#)).

2.7.2. Dosage des ETMs par spectrophotométrie d'absorption atomique

La spectroscopie d'absorption atomique est une méthode analytique utilisée pour identifier et quantifier la présence d'éléments dans une solution, reposant sur le principe de l'absorption de la lumière par des atomes excités. Chaque élément trace possède des longueurs d'onde spécifiques auxquelles il absorbe la lumière. La longueur d'onde absorbée permet d'indiquer la présence de l'élément tandis que l'intensité de cette absorption est proportionnelle à sa concentration dans l'échantillon ([Maharani et al., 2024](#)).

Dans cette étude, la quantification des éléments traces métalliques, notamment le plomb (Pb), le cadmium (Cd), le zinc (Zn), le fer (Fe) et le cuivre (Cu), dans les sous-produits de crevette rouge a été effectuée à l'aide d'un spectromètre d'absorption atomique à flamme (Shimadzu AA-7000, Japan). Pour chaque élément analysé, une courbe d'étalonnage a été établie en mesurant l'absorbance des solutions étalons à des concentrations comprises entre 0.1 et 2 ppm, aux longueurs d'onde respectives de 217 nm pour le plomb, 228.8 nm pour le

cadmium, 213.86 nm pour le zinc, 248.3 nm pour le fer, et 324.75 nm pour le cuivre. Les concentrations ont été exprimées par mg/kg de poids sec.

3. Développement de méthodes d'extraction verte de l'astaxanthine

Dans le cadre de cette étude, deux méthodes d'extraction écologiques (green extraction) de l'astaxanthine à partir des sous-produits de crevettes ont été développées. La première méthode utilise des solvants reconnus comme GRAS (Generally Recognized As Safe), sélectionnés pour leur sécurité sanitaire et leur faible impact environnemental. Ces solvants ont permis une extraction efficace tout en respectant les critères de durabilité et de non-toxicité.

La seconde méthode repose sur l'emploi d'huiles végétales comme solvants naturels pour l'extraction. Cette approche constitue une alternative respectueuse de l'environnement, favorisant une extraction douce adaptée aux industries alimentaire et pharmaceutique.

3.1. Extraction de l'astaxanthine par les solvants organiques (GRAS)

3.1.1. Choix du solvant

Les solvants organiques reconnus comme GRAS « Generally Recognized As Safe » utilisés pour cette extraction étaient l'éthanol, l'acétate d'éthyle, l'acétone et l'isopropanol. L'extraction de l'astaxanthine a été réalisée à l'abri de la lumière afin de prévenir toute photodégradation, selon la méthode de [Sindhu et Sherief \(2011\)](#) avec quelques modifications. Un volume de 10 mL de solvant organique a été mélangé à 1 g de poudre, puis agité pendant 1 heure à température ambiante. La solution a ensuite été filtrée sur papier filtre Whatman, et l'échantillon a fait l'objet de plusieurs extractions successives jusqu'à ce qu'il devienne incolore. Les extraits récupérés ont été combinés puis évaporés à 45 °C.

3.1.2. Optimisation des paramètres d'extraction

Après avoir sélectionné le solvant approprié offrant le rendement le plus élevé lors de l'extraction de l'astaxanthine à partir des sous-produits de crevettes rouges, trois paramètres principaux ont été optimisés : le rapport solide-liquide, la température et la durée

d'extraction. Différents rapports solide-liquide du résidu de crevettes par rapport au volume de solvant ont été étudiés (1:5, 1:10, 1:20, 1:30). L'extraction d'astaxanthine a ensuite été réalisée aux températures de 30, 40, 50 et 60 °C. Enfin, l'effet du temps d'extraction a été évalué sur des durées de 30, 45, 60, 75 et 90 minutes.

3.2. Extraction d'astaxanthine par les huiles végétales

3.2.1. Choix du solvant

Cinq huiles végétales différentes (argan, coco, tournesol, huile d'olive industrielle et huile d'olive traditionnelle) ont été évaluées pour leur efficacité à extraire l'astaxanthine des sous-produits de crevettes. La procédure d'extraction s'est inspirée de la méthode décrite par [Sachindra et Mahendrakar \(2005\)](#), avec quelques modifications adaptées à notre matrice. Un gramme de poudre a été mélangé à 5 mL d'huile, homogénéisé par vortex, puis incubé à 60°C pendant 1 heure. Ensuite l'extrait a été centrifugé à 4000 rpm pendant 20 mn puis filtré.

3.2.2. Optimisation des paramètres d'extraction

L'huile donnant le meilleur rendement d'astaxanthine a été sélectionnée pour optimisation des paramètres : rapport solide-liquide (1:5, 1:10, 1:20, 1:30 p/v), température (50, 60, et 70 °C), et durée d'extraction (30, 60, et 90 min). Cette optimisation visait à maximiser la récupération d'astaxanthine tout en préservant sa stabilité.

3.3. Détermination spectrophotométrique de l'astaxanthine

La teneur en astaxanthine de chaque extrait a été déterminée par spectroscopie UV-Visible. La quantification a été réalisée en mesurant l'absorbance des échantillons à 476 nm, les concentrations étant calculées à partir d'équations de calibration linéaires, conformément à la méthode décrite par [Asker et al. \(2018\)](#). Les résultats sont exprimés en microgrammes d'astaxanthine par gramme de résidus de crevettes, chaque mesure ayant été effectuée en triplicata.

4. Variation saisonnière de l'astaxanthine

Pour étudier l'impact des variations saisonnières sur le rendement en astaxanthine, l'extraction a été réalisée à partir de déchets de crevettes rouges recueillis auprès de pêcheries (Mostaganem) lors des quatre saisons : automne, hiver, printemps et été durant l'année 2023. L'extraction a été effectuée à l'aide d'acétone, selon la méthode GRAS développée précédemment. La teneur en astaxanthine a été mesurée par spectrométrie UV-Vis à une longueur d'onde de 476 nm.

5. Effet de la cuisson sur la teneur en astaxanthine

L'astaxanthine est sensible à la dégradation thermique, notamment lors d'un traitement thermique en présence d'oxygène, ce qui entraîne une isomérisation structurale et une dégradation du pigment (Boon *et al.*, 2010). Un échantillon de 100 g de crevettes fraîches a été bouilli à 100 °C pendant 10 minutes, puis décortiqué afin de récupérer la chair et les déchets associés (Swastawati, 2018). Ces échantillons ont été homogénéisés, puis l'astaxanthine a été extraite et quantifiée, aussi bien dans les échantillons crus que cuits, à l'aide d'acétone comme solvant selon la méthode développée précédemment.

6. Identification et quantification de l'astaxanthine par HPLC-DAD-APCI-MS

L'analyse de l'astaxanthine a été réalisée à l'aide d'un système HPLC Shimadzu (Kyoto, Japon) comprenant un contrôleur CBM-20A, deux pompes parallèles à double piston LC-30AD, un dégazeur DGU20A5R, un four à colonne CTO-20AC, un autosampler SIL-30AC, un détecteur photodiode array SPD-M20A, ainsi qu'un spectromètre de masse à quadripôle unique LCMS-2020 équipé d'une source APCI fonctionnant en mode ionisation positive.

La séparation chromatographique a été réalisée sur une colonne YMC Carotenoid C30 (250 × 4,6 mm, 5 µm) avec une phase mobile composée de méthanol/eau (96 :4, solvant A) et de MTBE (tert-butyl méthyl éther, solvant B). Le débit a été fixé à 0.8 mL/min puis ramené à 0.35 mL/min avant l'analyse par spectrométrie de masse, avec un gradient d'élution de 0-30 min: 5% B, 40 min: 30% B. La température du four était maintenue à 35

°C et le volume d'injection était de 5 µL. La détection spectrophotométrique par le détecteur à barrettes de diodes (DAD) a été réalisée de 220–700 nm, et le chromatogramme a été obtenu à 480 nm (fréquence : 12.5 Hz, temps: 0.080 s) (El Boumlasy et al., 2024).

Les paramètres du spectromètre de masse comprenaient un balayage en mode positif et négatif, une tension du détecteur de 1,50 kV, des températures de l'interface et du bloc chauffant respectivement de 400 °C et 250 °C, un débit de gaz nébuliseur en azote de 2,5 L/min, ainsi qu'un temps d'accumulation des ions de 30 ms. Chaque échantillon a été analysé en triplicat afin de garantir la reproductibilité des résultats. Les isomères d'astaxanthine ont été caractérisés qualitativement selon leurs profils d'absorption dans le visible, et la quantification a été réalisée via une courbe d'étalonnage externe construite avec le standard d'astaxanthine (0.05 à 50 ppm). Les résultats sont exprimés en milligrammes d'astaxanthine par gramme de sous-produits de crevettes.

7. Évaluation des activités biologiques de l'astaxanthine

7.1. Activité antioxydante

7.1.1. Détermination de l'activité antiradicalaire par piégeage du radical libre DPPH

L'activité antioxydante de l'extrait d'astaxanthine a été évaluée par la mesure de la capacité de piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle), selon le protocole décrit par Bougandoura et Bendimerad (2012). Un volume de 100 µL d'extrait à différentes concentrations a été ajouté à 1.9 mL de solution méthanolique fraîche de DPPH à 0.1 mM. Le mélange a été incubé à l'abri de la lumière pendant 30 minutes, puis l'absorbance a été mesurée à 517 nm. L'acide ascorbique a été employé comme standard de référence. Le pourcentage d'inhibition a été calculé selon la formule ci-dessous :

$$I\% = \frac{\text{Abs blanc} - \text{Abs ech}}{\text{Abs blanc}} \times 100$$

I% : pourcentage d'inhibition des radicaux libres

Abs blanc : Absorbance du blanc

Abs éch : Absorbance de l'échantillon

IC₅₀ correspond à la concentration d'extrait des caroténoïdes qui peut réduire 50% des radicaux libres de DPPH

7.1.2. Pouvoir réducteur du ferricyanure de potassium (PFRAP)

Dans le test PFRAP, les substances présentant une activité antioxydante interagissent avec le ferricyanure de potassium ($K_3[Fe(CN)_6]$) pour générer du ferrocyanure de potassium ($K_4[Fe(CN)_6]$). Ce dernier réagit ensuite avec le chlorure ferrique, formant un complexe bleu appelé ferrocyanure ferrique, dont l'absorbance maximale est mesurée à 700 nm (Xiao et al., 2020).

Le pouvoir réducteur de l'extrait d'astaxanthine a été déterminé selon la méthode décrite par Oyaizu (1986). Pour cela, un volume d'1 mL d'extrait d'astaxanthine ou d'acide ascorbique est mélangé à 2.5 mL de tampon phosphate (0.2 M, pH 6.6) et à 2.5 mL de solution de hexacyanoferrate de potassium (1%) [$K_3Fe(CN)_6$]. Le mélange est ensuite incubé à 50 °C pendant 20 minutes, avant l'ajout de 2.5 mL d'acide trichloroacétique à 10%. Après centrifugation à 3000 tours/min pendant 10 minutes, 2.5 mL du surnageant est prélevé puis mélangé à 2.5 mL d'eau distillée et 0.5 mL de chlorure ferrique ($FeCl_3$) à 0.1% (p/v). L'absorbance est mesurée à 700 nm. Une augmentation de l'absorbance traduit une élévation du pouvoir réducteur, caractérisant ainsi la capacité antioxydante du mélange.

7.2. Activité antimicrobienne

7.2.1. Souches microbiennes

Les souches *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Escherichia coli* ATCC 10536, *Listeria monocytogenes* ATCC 1392, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 proviennent du laboratoire LBSAS (Université de Mostaganem).

7.2.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La concentration minimale inhibitrice (CMI) correspond à la plus faible concentration d'un agent antimicrobien à laquelle aucune croissance bactérienne n'est détectée après incubation (Ramos-Hernández et al., 2025). La CMI a été évaluée selon la méthode de micro-dilution en milieu liquide, conformément aux recommandations du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2023).

Dans cette méthode, 100 µL de chaque suspension bactérienne ont été ajoutés dans les puits d'une microplaque de 96 puits contenant déjà 100 µL d'astaxanthine ou de gentamicine, diluées de manière géométrique avec un facteur de 2. La concentration finale de l'inoculum était fixée à 5×10^5 UFC/mL. Des puits témoins, contenant uniquement le milieu de culture ou le milieu ensemencé par la souche bactérienne sans présence d'échantillon, ont été inclus. Les microplaques ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures. La concentration minimale inhibitrice (CMI) correspond à la plus faible concentration d'échantillon ayant complètement empêché la croissance bactérienne.

7.3. Activité anti-inflammatoire

7.3.1. Activité anti-inflammatoire *in vitro* de l'astaxanthine

7.3.1.1. Test d'inhibition de la dénaturation de l'albumine (BSA)

Le potentiel anti-inflammatoire de l'extrait d'astaxanthine a été évalué par le test d'inhibition de la dénaturation de la sérum albumine bovine (BSA). Des aliquotes de 1 mL de solutions test à différentes concentrations ont été mélangées à 1 mL d'une solution de BSA à 1 mM, préparée dans un tampon phosphate (pH 6.4). Après une incubation de 15 minutes, le mélange a été soumis à une température de 70 ± 1 °C durant 10 minutes. Après refroidissement, l'absorbance a été mesurée à 660 nm ([Rajamohan et al., 2025](#)). Le diclofénac (à 20 mg/kg) a été employé en tant que témoin positif. Le taux d'inhibition de la dénaturation a été déterminé selon la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = ((\text{Abs échantillon} - \text{Abs contrôle}) / \text{Abs contrôle}) \times 100$$

7.3.1.2. Test de stabilisation de la membrane des érythrocytes (HRBC)

Un volume de 10 mL de sang a été prélevé et centrifugé à 3000 tr/min pendant 10 minutes. Le culot d'érythrocytes a été récupéré puis lavé trois fois avec une solution saline tamponnée au phosphate 10 mM (pH 7.4). Un mélange réactionnel a été préparé en mélangeant 1 mL d'extrait d'astaxanthine à différentes concentrations et 1 mL de suspension à 10% d'érythrocytes. Les tubes ont été incubés pendant 30 minutes dans un bain-marie à 56 °C, puis laissés refroidir. Après centrifugation à 2500 tr/min pendant 5 minutes, l'absorbance des surnageants a été mesurée à 560 nm ([Govindappa et al., 2011](#)).

Dans le contrôle négatif, l'extrait est remplacé par une solution saline, tandis que dans le contrôle positif, il est remplacé par du diclofénac. Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Inhibition de l'hémolyse (\%)} = [1 - (\text{Abs}_{\text{Astaxanthine}} / \text{Abs}_{\text{Contrôle}})] \times 100$$

7.3.2. Activité anti-inflammatoire *in silico* de l'astaxanthine

7.3.2.1. Inhibition de NF- κ B par l'astaxanthine

Le protocole de docking moléculaire a été réalisé à l'aide de la plateforme en ligne CB-Dock. Les paramètres de docking étaient définis par une grille de $38 \times 38 \times 38$ Å et un seuil de regroupement RMSD de 2.0 Å. La structure protéique ciblée correspondait à la sous-unité p50/p65 du facteur NF- κ B (PDB : 1NFI), intervenant de façon centrale dans la régulation des processus inflammatoires.

Les sites potentiels de fixation sur la protéine NF- κ B ont été identifiés à l'aide de l'outil CASTp, permettant la localisation et la caractérisation des cavités protéiques par le calcul de leur volume et de leur géométrie. Cette approche facilite la détermination des points d'interaction privilégiés pour l'astaxanthine.

7.3.2.2. Inhibition de la COX-2 par l'astaxanthine

Le modèle d'interaction moléculaire a été construit sur CB-Dock avec les paramètres suivants : structure cristallographique de la COX-2 humaine (PDB : 5U7N), préparée par élimination des molécules d'eau et ajout d'hydrogènes polaires ; grille de docking de $38 \times 38 \times 38$ Å centrée sur le site catalytique (coordonnées dérivées de l'analyse CASTp) ; réalisation de 10 études de docking indépendantes avec regroupement des poses (seuil $\text{RMSD} \leq 2.0$ Å). La validation du protocole a été assurée par redocking du ligand natif (acide arachidonique), avec précision confirmée ($\text{RMSD} < 1.5$ Å).

Les interactions moléculaires ont été visualisées et caractérisées via PyMOL (v2.5) pour l'observation 3D des complexes ligand/protéine et la mise en évidence des acides aminés impliqués (ex : TYR385, ARG120). Les diagrammes d'interaction en 2D ont été

générés avec LigPlot+ (v2.2), permettant de cartographier les liaisons hydrogène, les interactions hydrophobes et de van der Waals. CASTp (v3.0) a servi à l'analyse quantitative de la cavité de liaison, notamment pour le calcul du volume (Å³) et l'identification des résidus catalytiques.

7.3.2.3. Prédiction ADMET

Les propriétés pharmacocinétiques et toxicologiques de l'astaxanthine ont été évaluées *in silico* à l'aide des plateformes SwissADME et pkCSM. Les analyses ont porté sur l'absorption intestinale, la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique (BHE) et le potentiel d'interactions avec les isoenzymes du cytochrome P450 (CYP). SwissADME offre des prédictions robustes sur l'absorption gastro-intestinale (modèle BOILED-Egg), la perméabilité membranaire et l'inhibition des CYP, tandis que pkCSM utilise des signatures moléculaires pour estimer l'absorption, la distribution, le métabolisme, l'excrétion et la toxicité. Ces outils complémentaires ont permis d'établir un profil ADMET complet et fiable pour l'astaxanthine, paramètre essentiel pour évaluer son potentiel en tant qu'agent anti-inflammatoire.

8. Effet de la supplémentation en astaxanthine sur la croissance du tilapia rouge

8.1. Tilapia « *Oreochromis* sp »

L'espèce utilisée dans cette étude est le tilapia rouge « *Oreochromis* sp », un hybride résultant du croisement entre deux espèces, le tilapia du Nil (*Oreochromis niloticus*) et le tilapia du Mozambique (*Oreochromis mossambicus*). Des juvéniles âgés de trois mois ont été acquis auprès d'un aquaculteur local à Stidia (Mostaganem) en avril 2024. À leur arrivée, les poissons ont été installés dans des aquariums, où ils ont été laissés sans alimentation durant 48 heures afin de permettre leur acclimatation.

8.2. Conditions d'élevage

Quatre aquariums (100 litres) ont été rigoureusement nettoyés et désinfectés avant d'être remplis d'eau filtrée (figure 13). Ils ont été maintenus dans des conditions d'élevage standardisées, contrôlées en continu, comprenant une température stable, un cycle lumineux

régulé, ainsi qu'une oxygénation permanente assurée par un système de pompe à air. Chaque aquarium contenait 20 spécimens de tilapia, présentant un poids individuel moyen d'environ 5 g. Le renouvellement partiel de l'eau (environ 30%) était effectué hebdomadairement afin de préserver la qualité du milieu. L'alimentation, formulée spécifiquement pour cette espèce, était administrée deux fois par jour à des doses calibrées en fonction du poids total du stock.



Figure 13 : Elevage expérimental du tilapia rouge (*Oreochromis* sp)

8.3. Formulation et composition des régimes expérimentaux

Pour évaluer l'impact de la supplémentation en astaxanthine sur la croissance du tilapia rouge (*Oreochromis* sp.), différents régimes expérimentaux ont été formulés. Ces formulations permettent de comparer les effets d'un régime commercial standard ([tableau 3](#)), d'un régime à base de farine des sous-produits de crevettes, ainsi que de régimes enrichis à des concentrations variables d'astaxanthine ([figure 14](#)) :

C : Alimentation commerciale de référence

F : Régime à base de farine des sous-produits de crevettes

A5 : Alimentation de référence enrichie à 5% d'astaxanthine

A10 : Alimentation de référence enrichie à 10% d'astaxanthine

La quantité alimentaire administrée a été ajustée progressivement en fonction de la croissance du tilapia (*Oreochromis sp.*), correspondant à 2% du poids corporel des poissons (Clark *et al.*, 2023).

Tableau 3 : Composition de l'alimentation de référence (DADA- FISH)

Composition	Pourcentage %
Protéines	43%
Lipides	8%
Fibres bruts	1.90%
Cendres brutes	8.10%

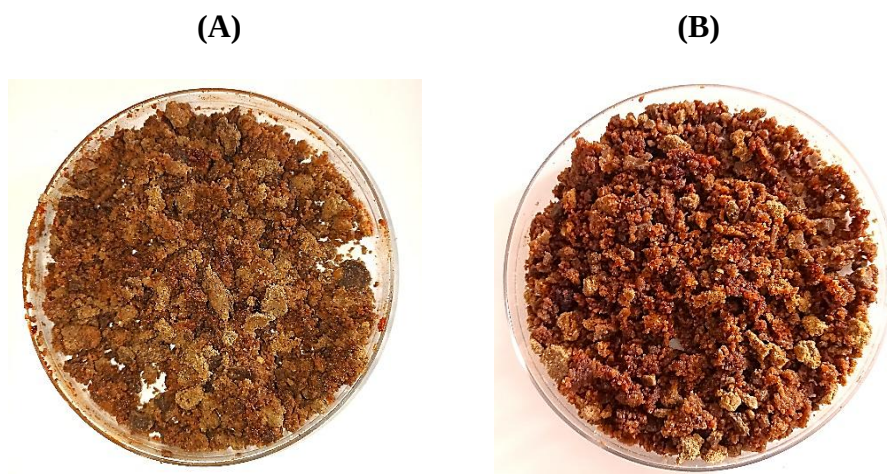


Figure 14 : Alimentation enrichie en astaxanthine à (A) 5% et (B) 10%

8.4. Effet des régimes alimentaires sur la croissance du tilapia

Le suivi de la croissance des tilapias soumis aux différents régimes alimentaires a été effectué à intervalles réguliers de 15 jours, sur une période totale de 60 jours. Les paramètres mesurés comprenaient la longueur standard exprimée en centimètres (cm) et le poids corporel en grammes (g).

8.5. Développement de la pigmentation des poissons durant la croissance

Les concentrations en caroténoïdes totaux des différents lots expérimentaux de tilapias ont été quantifiées afin de caractériser l'effet de la supplémentation en astaxanthine sur la pigmentation. Les caroténoïdes ont d'abord été extraits à partir des échantillons de chair selon la méthode développée, utilisant l'acétone comme solvant d'extraction. Ensuite, la quantification des caroténoïdes totaux a été effectuée en mesurant l'absorbance à une longueur d'onde de 470 nm selon le protocole décrit par [Ferreira et al. \(2021\)](#).

8.6. Développement de la composition nutritionnelle

Au cours de cette phase expérimentale, des analyses quantitatives et périodiques ont été menées tous les 15 jours sur des échantillons prélevés de tilapia afin de déterminer de manière précise la teneur en matière sèche, en cendres, ainsi que les lipides totaux, les protéines brutes et les glucides totaux, conformément aux protocoles décrits dans les sections 2.1 à 2.5.

9. Analyse statistique

Les données ont été analysées à l'aide du logiciel Statbox Pro (version 6.40). Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne $\pm$ écart-type, issus de triplicata d'expériences. Les différences entre les groupes ont été évaluées par une analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA à un facteur), suivie du test post-hoc de Tukey. Le seuil de significativité statistique a été fixé à $p < 0.05$.

Chapitre III :

Résultats et discussion

Chapitre III : Résultats et discussion

1. Caractérisation de la farine des sous-produits de crevettes

Lors de la transformation des crevettes, certaines parties considérées comme « non comestibles » pour la consommation humaine, telles que la tête, l'exosquelette abdominal et la queue, sont retirées. Ces déchets solides représentent entre 35 % et 65 % du poids total de la production de crevettes, en fonction notamment de l'espèce et de l'efficacité du procédé de transformation. Aujourd'hui, ces déchets solides sont reconnus comme une source précieuse de composés bioactifs ainsi que d'ingrédients potentiels pour l'élaboration d'aliments.

Le [tableau 4](#) présente les principaux résultats de la caractérisation chimique de la farine issue des sous-produits de la crevette rouge (*Aristeus antennatus*). Les teneurs en eau, cendres, lipides, protéines et sucres totaux ont été déterminées.

1.1. Teneur en eau

Les sous-produits de la crevette crue, comprenant principalement la tête, la carapace et la queue, se caractérisent par une forte teneur en eau. Le séchage de la poudre obtenue, à $105\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$, a entraîné une perte d'humidité notable. L'eau constitue en effet la fraction dominante de la matière brute, avec une valeur de 73.30 ± 2.91 . Ce résultat est en accord avec les données de [Rosa et Nunes \(2003\)](#) qui ont rapporté pour la crevette rouge (*Aristeus antennatus*) des taux d'humidité allant de 73.9 à 75.6 % chez les femelles et de 73.8 à 75.3 % chez les mâles. Des valeurs plus faibles ont toutefois été décrites par [Ficano et al. \(2024\)](#), avec une teneur de 64.70 % dans les sous-produits de crevettes.

De même, [Bassig et al. \(2021\)](#) ont observé une teneur en eau de 75 % dans les têtes de crevettes tigrées (*Penaeus monodon*), tandis que [Sánchez-Camargo et al. \(2011\)](#) ont rapporté une valeur de 73,9 % dans les déchets de crevettes rouges brésiliennes (*Penaeus paulensis*). Par ailleurs, [Gonçalves et Ribeiro \(2009\)](#) ont rapporté une valeur de 75.8 % dans les crevettes blanches (*Pleoticus muelleri*). Ces variations confirment que la teneur en eau

des sous-produits de crevettes dépend à la fois de l'espèce considérée, de la nature des tissus analysés et de la méthode de séchage employée (Bueno-Solano *et al.*, 2009).

1.2. Teneur en cendres

La teneur en cendres, représentant la fraction minérale de l'échantillon, a été estimée à $29.11 \pm 0.43\%$. Cette fraction est constituée de divers éléments inorganiques, dont les carbonates de calcium constituent la composante la plus abondante. La valeur obtenue dans la présente étude s'avère supérieure à celles rapportées par Nguyen *et al.* (2003), qui ont observé une teneur de 24.9 % de cendres dans les co-produits de crevettes.

Ficano *et al.* (2024) ont analysé les sous-produits des crevettes rouges *A. antennatus* provenant des restaurants locaux et des marchés aux poissons en Campanie (Italie), et ont obtenu une teneur en cendres plus faible ($15.30 \pm 0.27\%$). En revanche, Ismail *et al.* (2023) ont observé une teneur en cendres plus élevée, atteignant 32.27%, ce qui souligne la variabilité de cette composante minérale selon les origines des échantillons et les conditions d'analyse.

Selon Brasileiro *et al.* (2012), la composition minérale des sous-produits de crevettes est dominée par le carbonate de calcium, mais inclut également d'autres éléments tels que les phosphates, le magnésium, le silicium et le soufre.

Tableau 4 : Caractérisation chimique (%) des sous-produits de la crevette rouge (*Aristeus antennatus*)

Composant	Teneur (%)
Eau	73.30 ± 1.91
Cendres (MS)	29.11 ± 0.43
Protéines (MS)	33.05 ± 1.87
Glucides (MS)	34.37 ± 0.05
Lipides (MS)	3.47 ± 0.09

1.3. Teneur en Protéines

L'industrie de la transformation des crustacés génère des sous-produits riches en protéines de haute qualité et en acides aminés. Les têtes de crevettes se caractérisent par une teneur élevée en protéines (50 à 65 % en poids sec) et constituent une excellente source d'acides aminés essentiels, ce qui explique leur utilisation dans les aliments pour poissons ainsi que leur inclusion dans les rations destinées au bétail et à la volaille (De Aguiar Saldanha Pinheiro et al., 2021).

La quantification des protéines brutes a été réalisée conformément à la méthode de Kjeldahl, reposant sur la détermination de la teneur totale en azote (N) dans l'échantillon. Les résultats obtenus indiquent une teneur en azote de 5.28 % dans les sous-produits de la crevette rouge, correspondant à une teneur en protéines brutes de 33.05 ± 1.87 %. Ces résultats confirment que les protéines constituent une fraction importante de la matière sèche. En revanche, Moawad (2005) rapporte une teneur protéique inférieure, évaluée à 21.7 %. Dans une autre étude, Rosa et Nunes (2003) ont analysé la variation saisonnière de la composition nutritionnelle de la crevette rouge (*Aristeus antennatus*). Leur résultat, exprimé en pourcentage de poids humide, a montré qu'il n'existait pas de différence significative ($p < 0.05$) entre la teneur des protéines durant l'été (22% du poids) et l'hiver (21.4%).

Comparativement à d'autres espèces marines, les protéines issues des crustacés se distinguent par une teneur plus élevée en certains acides aminés tels que la glycine, l'acide glutamique, l'arginine et l'alanine, ce qui se traduit par une meilleure palatabilité (Nguyen et al., 2017). Par ailleurs, en raison de leur profil optimal en acides aminés essentiels, la valeur nutritionnelle des protéines de crustacés est comparable, voire supérieure, à celle de la viande rouge ou du soja (Venugopal, 2008 ; Yan & Chen, 2015 ; De Aguiar Saldanha Pinheiro et al., 2021). De plus, la teneur en acides aminés libres dans les déchets de crevettes est jusqu'à 15 % supérieure à celle des parties comestibles (Heu et al., 2003).

1.4. Glucides

1.4.1. Glucides totaux

Les Glucides contenus dans les déchets de crevettes sont principalement la chitine et le chitosane, qui assurent une fonction structurale essentielle au sein de l'exosquelette des

crustacés. Ces biopolymères possèdent un fort intérêt commercial et sont principalement extraits des exosquelettes de crabes, crevettes, coquillages et homards, constituant ainsi des sous-produits majeurs de l'industrie des produits de la mer.

La teneur en glucides trouvée dans notre étude dans les coproduits des crevettes rouges a été estimée à $34.37 \pm 0.05\%$. Selon [Saravanan et al. \(2023\)](#), les crustacés sont composés d'environ 20 à 50% de minéraux (principalement du carbonate de calcium), de 20 à 40% de protéines et de 15 à 40% de polysaccharides. Le principal polysaccharide présent dans les produits dérivés de la crevette est la chitine, un polymère composé d'unités de β -1,4-N-acétyl-D-glucosamine, qui joue un rôle majeur dans la structure de l'exosquelette du crustacé ([Eggink et al., 2025](#)).

I.4.1. Identification des sucres par HPLC-RID

L'analyse chromatographique réalisée par HPLC-RID a permis d'identifier et de quantifier les principaux sucres présents dans les coproduits de la crevette rouge *Aristeus antennatus*. Comme le montre le chromatogramme ([figure 15](#)), trois pics majeurs ont été observés en comparant avec les standards correspondants aux temps de rétention 7.86 min, 8.32 min et 10.67 min, correspondant respectivement au fructose, au glucose et au ribose. La quantification des sucres ([tableau 5](#)) a révélé une nette dominance du ribose avec une concentration de 136.79 ± 4.16 ppm, suivi du fructose (58.66 ± 2.65 ppm) et du glucose (50.24 ± 1.73 ppm).

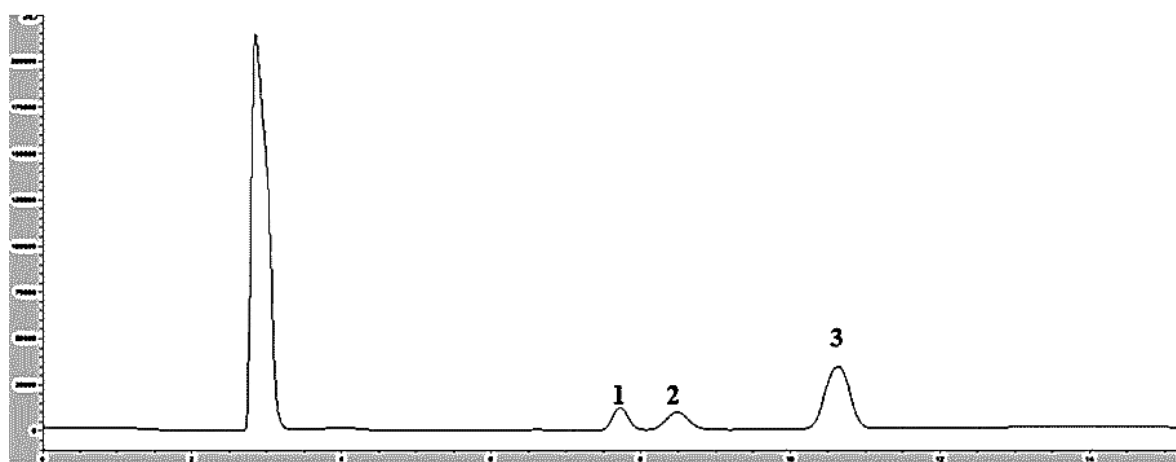


Figure 15 : chromatogramme des sucres des co-produits des crevettes rouges (*A. antennatus*) par HPLC-RID. 1 : Fructose, 2 : Glucose, 3 : Ribose

Il existe très peu d'études mené sur la composition monosaccharidique des déchets de crevettes vu que le glucide majoritaire est la chitine et son dérivé le chitosane, mais les résultats obtenus comparables à ceux rapportés par [Mandeville et al. \(1992\)](#) où sept sucres libres ont été identifiés, parmi lesquels le ribose est de loin le plus abondant. La dominance du ribose peut être le résultat de la dégradation des nucléotides par les enzymes vu la richesse en tissus résiduels et en composés cellulaires dans les déchets de crevettes ([Xu et al., 2013](#)).

Dans une autre étude réalisée par [Ficano et al. \(2024\)](#) sur *Aristeus antennatus*, les auteurs ont mis en évidence la présence notable de glucose et de fructose, avec des concentrations respectives de 4.86 ± 0.37 g/100 g et 9.96 ± 0.12 g/100 g. Les crevettes stockent les glucides principalement sous forme de glycogène dans l'hépatopancréas, de glucosamine dans la cuticule, et de tréhalose dans les muscles, ce qui explique leur présence limitée dans l'exosquelette. Par ailleurs, les sucres simples servent à répondre aux besoins énergétiques immédiats des crevettes ([Cruz-Suárez et al., 1994](#)).

Tableau 5 : Identification et quantification des sucres issus des coproduits des crevettes rouges (*A. antennatus*) par HPLC-RID

Pics	Rt	Composés	Quantité (µg/g)
1	7.86	Fructose	58.66 ± 2.65
2	8.32	Glucose	50.24 ± 1.73
3	10.67	Ribose	136.79 ± 4.16

1.5. Les lipides

Le rendement lipidique dans les sous-produits de la crevette rouge *Aristeus antennatus* obtenu dans notre étude est de 3.47% selon la méthode de [Folch \(1957\)](#). Ce résultat est supérieur à celui rapporté par [Ficano et al. \(2024\)](#), qui ont trouvé une teneur en lipides de $1.44 \pm 0,03\%$, ce qui pourrait s'expliquer par des différences liées à l'origine géographique, aux méthodes d'extraction ou aux conditions de traitement.

En comparaison avec d'autres espèces, [Nargis et al. \(2006\)](#) ont trouvé une teneur similaire de 3.58% dans les déchets de *Penaeus monodon*. D'autres études révèlent des teneurs légèrement plus élevées, comme [Sánchez-Camargo et al. \(2011\)](#) avec 4.9% dans les déchets de crevettes rouges brésiliennes, et [Yu et al. \(2020\)](#) qui ont observé des teneurs comprises entre 4.69% et 5.89% dans les sous-produits lyophilisés de *P. monodon*, *P. vannamei* et *P. chinensis*.

Des valeurs particulièrement élevées ont enfin été rapportées, telles que celles de [Ravichandran et al. \(2009\)](#) avec 9.8% dans la tête et la carapace de *Penaeus indicus*, ou d'[Ibrahim et al. \(1999\)](#), qui ont observé 10.5% dans le céphalothorax de *Penaeus* spp. Ces variations importantes soulignent l'influence des facteurs biologiques, géographiques et méthodologiques, ainsi que l'importance de la méthode d'extraction employée.

1.6. Profil des acides gras

La composition en acides gras des sous-produits de la crevette rouge "*A. antennatus*" est représentée dans le [tableau 6](#). L'analyse du profil des acides gras issus des sous-produits de crustacés met en évidence une prédominance des acides gras mono-insaturés (AGMI) avec 41.02%, suivis des acides gras polyinsaturés (AGPI) à 32.72%, et des acides gras saturés (AGS) représentant 21.38% du profil total. Cette distribution est caractéristique des lipides issus d'organismes marins, où les AGMI et AGPI constituent la fraction majoritaire, conférant une fluidité membranaire adaptée aux conditions aquatiques ([Harayama & Antonny, 2023](#)).

Selon les résultats, l'acide oléique (C18:1 n-9) domine largement le profil avec 25.62%, suivi de l'acide palmitique (C16:0) à 11.83%. Parmi les acides gras polyinsaturés, l'acide docosahexaénoïque (DHA, C22:6 n-3) présente une concentration remarquable de 10.04%, tandis que l'acide eicosapentaénoïque (EPA, C20:5 n-3) atteint 8.94%. Ces deux acides sont des acides gras polyinsaturés oméga-3 naturellement présents dans les poissons gras. Bien que l'organisme humain puisse les synthétiser à partir de l'acide α -linolénique (ALA), cette conversion s'avère généralement faible et présente d'importantes variations inter-individuelles.

Tableau 6 : Composition des acides gras des sous-produits de la crevette rouge "*A. antennatus*" % (g/100 g de EMAGs)

EMAGs	Concentrations (%)
Ac. palmitique C16:0	11.83
Ac. heptadécanoïque C17:0	1.03
Ac. stéarique C18:0	6.07
Ac. docosanoïque C22:0	1.06
Σ Acides gras saturés (AGS)	21.38
Ac. palmitoléique C16:1 n-7	2.87
Ac. cis-10-Heptadécenoïque C17:1	1.15
Ac. oléique C18:1 n-9	25.62
Ac. cis-11-Octadécenoïque C18:1 n-7	4.34
Ac. cis-11-Eicosénoïque C20:1 n-9	2.27
Ac. nervonique C24:1 n-9	1.83
Σ Acides gras monoinsaturés (AGMI)	41.02
Ac. linoléique C18:2 n-6	2.11
Ac. cis-11,14-Eicosadiénoïque C20:2 n-6	1.94
Ac. cis-5,8,11,14-Arachidonique C20:4 n-6	5.44
Ac. cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaénoïque C20:5 n-3	8.94
Ac. cis-7,10,13,16,19-Docosapentaénoate C22:5 n-3	0.99
Ac. cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexaénoïque C22:6 n-3	10.04
Σ Acides gras polyinsaturés (AGPI)	32.72
Σω 6	10.4
Σω 3	21.24
Σω 6/ Σω 3	0.49
AGPI/ AGS	1.92
AGPI/ AGMI	1.25
Non identifié	4.88
Total	95.12

Les crevettes sont largement reconnues pour leur richesse en acide eicosapentaénoïque, en acide docosahexaénoïque et en d'autres acides gras aux propriétés bénéfiques pour la santé humaine (Xu et al., 2025). Ces propriétés sur la santé cardiovasculaire ont été reconnues pour la première fois dans les années 1970. Depuis lors, de nombreuses recherches ont démontré leurs effets bénéfiques dans diverses pathologies, notamment les troubles métaboliques, inflammatoires et neuropsychiatriques. Ces bénéfices thérapeutiques s'expliquent par leurs multiples mécanismes d'action : propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes, rôle structurel et fonctionnel dans les membranes cellulaires, ainsi que leur implication dans la régulation de l'expression génique (Elgar, 2022 ; Van Nguyen & Shahidi, 2025 ; Baker et al., 2025).

Les travaux de Rosa et Nunes (2003) sur la composition lipidique des crevettes rouges *A. antennatus* ont établi un profil caractérisé par la prédominance de l'acide oléique (18.4%), suivi de l'acide docosahexaénoïque (17.2%) et de l'acide palmitique (15.5%). Cette distribution révélait une hiérarchie compositionnelle dominée par les acides gras polyinsaturés (42.6%), suivis des mono-insaturés (34.6%) et des saturés (22.9%). Ces données positionnent *A. antennatus* comme une espèce typiquement riche en acides gras hautement insaturés, caractéristique des crustacés profonds adaptés aux environnements marins tempérés.

Cette différence dans la dominance des acides gras polyinsaturés peut être expliquée par le fait que ces auteurs ont analysé le profil des acides gras de la partie comestible des crevettes alors que notre étude porte sur les déchets de transformation. Le tissu musculaire des crustacés accumule préférentiellement les acides gras polyinsaturés à longue chaîne pour maintenir la fluidité membranaire nécessaire aux processus contractiles et aux échanges ioniques.

Les déchets sont principalement constitués de carapaces, d'exosquelette, de têtes et d'appendices, dont la composition lipidique répond à des fonctions biologiques distinctes. Ces tissus, à vocation structurelle et protectrice, présentent une composition lipidique adaptée à la résistance mécanique et à la protection contre l'environnement extérieur.

Dans une autre étude menée par [Saini et al. \(2020\)](#), le profil des acides gras a été établi dans les déchets des crevettes rouges *Pleoticus muelleri*. Les résultats révèlent une distribution lipidique caractérisée par la prédominance des acides gras polyinsaturés qui représentent 42.8%. Les acides gras mono-insaturés constituent la fraction secondaire avec 32 %, tandis que les acides gras saturés (AGS) représentent 25.2 % du profil total. Cette hiérarchie compositionnelle reflète l'adaptation métabolique exceptionnelle de *P. muelleri* aux conditions environnementales spécifiques de l'Atlantique Sud, favorisant l'accumulation d'acides gras hautement insaturés pour optimiser les fonctions membranaires à basse température. Leurs résultats confirment aussi que l'acide oléique et l'acide gras dominant avec une valeur de 17.8%, suivi de DHA (17.2 %), ensuite l'acide palmitique (16.2%).

Le ratio $\omega 6/\omega 3$ de 0.49 constitue l'un des aspects les plus remarquables de ce profil lipidique. Cette valeur indique une prédominance nette des oméga-3 (21.24%) sur les oméga-6 (10.4%). Des études antérieures en nutrition humaine ont démontré qu'un ratio alimentaire $\omega 6:\omega 3$ élevé favorise la pathogenèse de nombreuses pathologies, notamment les maladies cardiovasculaires, inflammatoires, auto-immunes et cognitives, ainsi que l'obésité et le cancer. Un ratio optimal $\omega 6:\omega 3$ s'avère essentiel pour maintenir l'homéostasie de nombreux processus biologiques, tels que l'apoptose cellulaire, l'inflammation, le métabolisme des acides gras et du cholestérol, entre autres ([Katan et al., 2021](#) ; [Du et al., 2025](#)).

Une diète optimale est principalement associée aux proportions relatives des acides gras, notamment des ratios élevés d'AGPI/AGS et d'AGPI/AGMI. Les lipides présentant un ratio AGPI/AGS supérieur à 0.45 sont spécifiquement recommandées pour la consommation humaine dans l'optique de minimiser les risques de maladies cardiovasculaires et d'autres pathologies chroniques ([Laamanen et al., 2024](#)). L'analyse de nos données révèle des ratios particulièrement favorables qui surpassent largement les recommandations nutritionnelles internationales. Le ratio AGPI/AGS s'établit à 1.92, dépassant largement le seuil minimal recommandé. Parallèlement, le ratio AGPI/AGMI atteint 1.25, témoignant d'un équilibre favorable entre les fractions polyinsaturées et mono-insaturées, particulièrement recherché dans les applications nutraceutiques. Ces valeurs exceptionnelles positionnent les sous-produits de crustacés dans la catégorie premium des matières grasses bénéfiques pour la santé cardiovasculaire.

1.7. Dosage des éléments traces métalliques (ETMs)

La consommation de crustacés constitue une source importante de nutriments essentiels. Toutefois, leur sécurité sanitaire soulève des interrogations, car ces organismes peuvent accumuler des éléments à fort potentiel toxicologique dans leurs tissus (Cubbon et al., 2025).

Certains éléments, tels que le cuivre, le sélénium et le zinc, sont essentiels en faibles concentrations mais deviennent toxiques à haute dose, tandis que d'autres, notamment le plomb, l'arsenic, le cadmium et le mercure, sont exclusivement toxiques. Cette toxicité avérée impose une surveillance rigoureuse des contaminants métalliques dans les crustacés pour garantir la sécurité alimentaire (Yosuva et al., 2025).

Les éléments traces métalliques présents dans les sous-produits de crevettes rouges ont été quantifiés par spectrométrie d'absorption atomique (SAA), une technique analytique sensible et spécifique largement utilisée pour la détermination quantitative des métaux à l'état de traces. Les métaux détectés incluent le cadmium (Cd), le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le plomb (Pb) et le fer (Fe). Le zinc, le cuivre et le fer sont des oligo-éléments essentiels pour de nombreuses fonctions biologiques, tandis que le plomb et le cadmium sont reconnus comme des contaminants toxiques responsables des effets nocifs pour la santé humaine (Suresh et al., 2024).

Les résultats présentés dans le [tableau 7](#) indiquent que le fer présente la concentration la plus élevée (8.63 µg/g) dans les co-produits de crevettes, suivi du zinc avec 0.54 µg/g. En ce qui concerne le cuivre, une faible quantité a été obtenue (0.13 µg/g). Ces trois métaux sont des éléments essentiels, indispensables au bon fonctionnement des organismes vivants. Concernant les éléments toxiques, le plomb est détecté à une concentration de 0.28 µg/g et le cadmium à 0.0097 µg/g. Ces métaux sont réputés pour leur toxicité même à faibles concentrations, avec un fort pouvoir de bioaccumulation et des effets délétères potentiels sur la santé humaine et les écosystèmes. La présence de Pb et Cd dans les déchets de crevettes représente un risque important, car ces éléments peuvent se transférer dans la chaîne alimentaire, compromettant la sécurité sanitaire des produits marins.

Les concentrations des éléments traces mesurées dans les échantillons analysés se situent nettement en dessous des seuils maximums recommandés par les organismes internationaux tels que la FAO et l'OMS ([Akinyele & Shokunbi, 2015](#)). Cette conformité rigoureuse aux normes de sécurité garantit l'innocuité des échantillons examinés pour un usage alimentaire ou toute autre application soumise à contrôle sanitaire.

Tableau 7 : Concentration des éléments traces métalliques dans les sous-produits de crevettes rouges « *A. antennatus* »

Élément	Concentrations (µg/g)	Limites FAO/OMS (µg/g)
Pb	0.28043 ± 0.0026	2.14
Cd	0.0097± 0.0004	0.06
Zn	0.5407± 0.0112	60
Cu	0.1329± 0.0007	3
Fe	8.6342 ± 0.2836	48

Les résultats obtenus confirment les travaux de [Hossain & Shahidi \(2024\)](#), qui ont mis en évidence la présence de sept micro-éléments (Mn, Fe, Cu, Zn, As, Ba et Ce) dans les déchets issus des crustacés, avec une nette prédominance du fer, dont la concentration varie entre 2.6 et 14.1 mg/100 g. [AlFaris et al. \(2022\)](#) ont observé une distribution similaire dans la crevette *Penaeus semisulcatus*, où le fer s'est révélé être l'élément majoritaire comparé à d'autres minéraux tels que le zinc et le cuivre.

Par ailleurs, une étude réalisée sur la crevette nordique (*Pandalus borealis*) prélevée en mer de Barents, affichant des teneurs respectives en fer et cuivre comprises entre 3.07–5.93 et 1.03–1.88 mg/100 g ([Rødde et al., 2008](#)). En ce qui concerne le zinc, [Baki et al. \(2018\)](#) a reporté des valeurs qui varient de 3.34 à 12.10 mg/kg dans les

plusieurs espèces de poissons. Il convient de souligner que les concentrations des éléments traces métallique dépendent étroitement des tissus analysés, des espèces considérées et des zones géographiques d'échantillonnage.

Dans une étude d'Olgunoglu (2015), les concentrations en cadmium, plomb, cuivre, zinc, fer, aluminium, mercure, nickel, manganèse et cobalt ont été analysées dans les tissus musculaires d'*Aristeus antennatus* prélevés dans le nord-est de la mer Méditerranée en Turquie. Les métaux Cd, Pb, Hg, Ni et Co sont restés indétectables dans ces tissus. Des concentrations élevées en zinc ont été relevées (9.953 mg/kg), suivies par celles de cuivre (2.099 mg/kg) et de fer (1.609 mg/kg).

Le fer est primordial pour les fonctions biologiques telles que le transport de l'oxygène, la production de l'énergie, et la synthèse enzymatique (Semenova et al., 2024). Le zinc joue un rôle crucial dans la croissance cellulaire, régulation du système immunitaire, et la régulation enzymatique (kiouri et al., 2024), tandis que le cuivre participe à plusieurs réactions métaboliques biologiques, notamment le métabolisme énergétique, la défense antioxydante et la neurotransmission (Zhong et al., 2024). Toutefois, bien qu'essentiels, ces métaux peuvent devenir toxiques s'ils sont présents en concentrations excessives.

2. Développement de méthodes d'extraction verte de l'astaxanthine

2.1. Extraction de l'astaxanthine par les solvants organiques (GRAS)

2.1.1. Choix du solvant

La détermination de l'astaxanthine dans les sous-produits de la crevette rouge, *Aristeus antennatus*, a révélé que le choix du solvant est crucial pour le processus d'extraction. Dans cette étude, plusieurs solvants organiques GRAS (éthanol, acétate d'éthyle, acétone et isopropanol) ont été utilisés pour extraire l'astaxanthine. Les résultats présentés dans le [tableau 8](#) indiquent que l'acétone offre le meilleur rendement d'astaxanthine, avec une concentration de 590.47 µg/g de déchets de crevettes, suivi de l'éthanol (543.15 µg/g) et de l'acétate d'éthyle (483.79 µg/g). L'isopropanol s'est révélé être le solvant d'extraction le moins efficace pour l'extraction d'astaxanthine (212.89 µg/g), respectivement.

L'acétone, un solvant organique modérément polaire, est fréquemment utilisé pour extraire les caroténoïdes et les xanthophylles (Sachindra et al., 2006 ; Dave et al., 2020). Dans une étude menée par Tsiaka et al. (2015), un rendement élevé d'astaxanthine de 233.6 µg/g a été obtenu avec l'acétone à partir de têtes d'*A. antennatus*.

De Aguiar Saldanha Pinheiro et al. (2023) ont étudié l'effet de deux technologies d'extraction innovantes (champs électriques pulsés (PEFs) et extraction accélérée par solvant (ASE)), en utilisant l'éthanol et le DMSO comme solvants pour l'extraction d'astaxanthine d'*A. antennatus*. Ils ont rapporté que les valeurs d'astaxanthine variaient de 169.6 ± 2.6 µg/g de poids sec à 585.90 ± 6.9 µg/g.

L'espèce *Aristeus antennatus* est considérée comme une bonne source de caroténoïdes, en particulier d'astaxanthine, ce qui explique les excellents rendements d'extraction obtenus par les divers solvants. Dans plusieurs études, les auteurs ont rapporté des valeurs plus faibles d'astaxanthine provenant d'autres espèces, telles que *Procambarus clarkii*, *Melicertus kerathurus*, *Litopenaeus vannamei*, *Litopenaeus stylirostris* et *Litopenaeus setiferus* (Yuan et al., 1999 ; Gimeno et al., 2007 ; Hu et al., 2019 ; De Aguiar Saldanha Pinheiro et al., 2023).

Tableau 8 : Rendement d'astaxanthine obtenu avec différents solvants organiques (µg/g de déchets de crevettes)

Solvant	Astaxanthine
Isopropanol	212.89 ± 14.28
Éthanol	543.15 ± 20.04
Acétate d'éthyle	483.79 ± 11.67
Acétone	594.46 ± 22.71

2.1.2. Rapport solide-liquide

Après avoir sélectionné le solvant approprié pour l'extraction de l'astaxanthine, l'influence du rapport solide-liquide sur les performances extractives a été évaluée. Ce paramètre constitue un facteur déterminant dans l'efficacité des procédés d'extraction. Quatre ratios solide-liquide ont été investigués : 1:5, 1:10, 1:20 et 1:30. L'analyse des résultats obtenus (figure 16), révèle une corrélation positive entre l'augmentation du rapport solide-liquide et l'efficacité extractive de l'astaxanthine.

Le rendement optimal a été atteint pour un ratio de 1:30, avec une concentration en astaxanthine de 1345 $\mu\text{g/g}$. L'absence de différence statistiquement significative entre les rendements obtenus aux rapports 1:20 et 1:30 ($p \geq 0.05$) a conduit à l'adoption du ratio 1:20 pour les étapes subséquentes d'optimisation, dans une perspective d'économie de solvant.

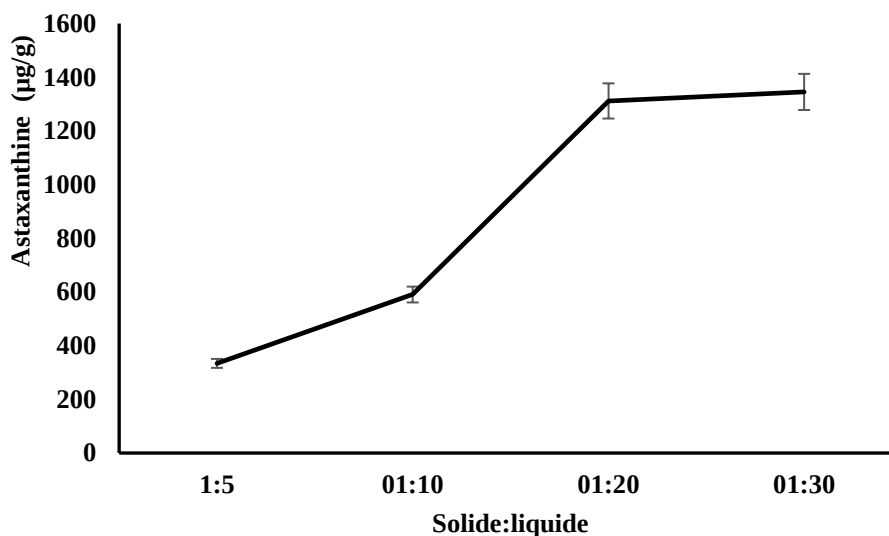


Figure 16 : Influence du rapport solide-liquide sur le rendement d'extraction de l'astaxanthine avec l'acétone

L'augmentation du volume de solvant d'extraction permet d'accroître la surface d'interface échantillon-acétone, favorisant ainsi les phénomènes de diffusion et optimisant l'efficacité extractive de l'astaxanthine. Ces observations corroborent les travaux de [Zou et al. \(2013\)](#), qui ont démontré l'impact du rapport solide-liquide sur l'extraction d'astaxanthine

à partir d'*Haematococcus*. Leurs résultats attestent d'une amélioration significative du rendement extractif lors de la diminution du ratio de 1:5 à 1:20, avec une stabilisation des performances au-delà de cette valeur seuil.

2.1.3. Température d'extraction

Afin d'évaluer l'influence de la température sur le rendement de l'astaxanthine, les extractions ont été réalisées à quatre températures croissantes (30, 40, 50 et 60 °C) avec un rapport solide-liquide de 1:20 en acétone pendant une heure. Selon nos observations (figure 17), le rendement optimal en astaxanthine a été obtenu à 30 °C. L'augmentation de la température affecte significativement le rendement ; une perte de 66% de l'astaxanthine a été constatée à 50 °C. La concentration minimale en astaxanthine a été enregistrée à 60 °C (297.65 µg/g). Cette diminution résulte principalement du point d'ébullition de l'acétone à 56.2 °C, induisant l'évaporation du solvant. De plus, les températures élevées peuvent provoquer la dissociation de l'astaxanthine des molécules protéiques, conduisant à une dégradation partielle de la molécule par isomérisation de la forme trans vers la forme cis (De Bruijn *et al.*, 2016 ; Santos *et al.*, 2021 ; Sakaguchi *et al.*, 2024).

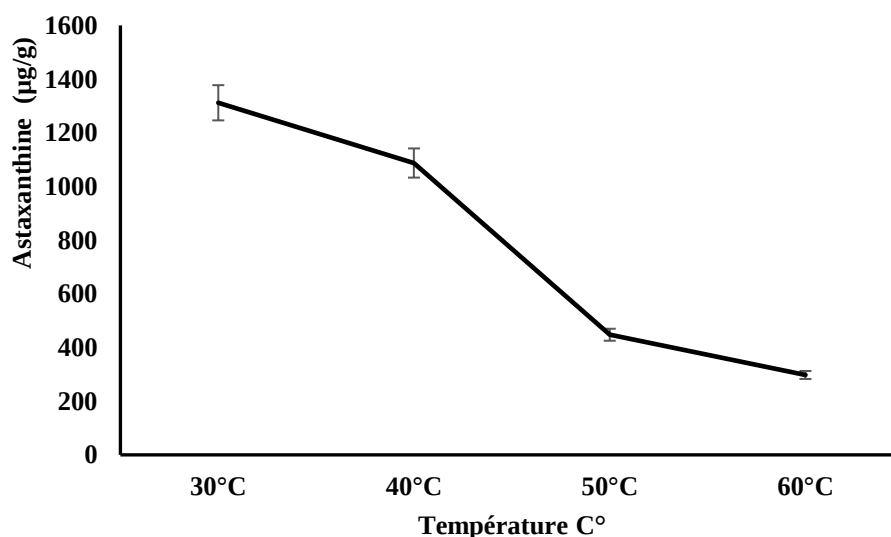


Figure 17 : Influence de la température sur le rendement d'extraction de l'astaxanthine avec l'acétone

Zou et al. (2013) ont rapporté que la teneur en astaxanthine d'*Haematococcus pluvialis* s'améliorait avec la température d'extraction comprise entre 20 à 40 °C ; au-delà de cette température, le rendement diminuait en raison de la dégradation de l'astaxanthine. Une température de 30 °C a été établie comme paramètre opératoire pour la suite des expérimentations.

2.1.4. Durée d'extraction

Afin d'explorer l'effet de la durée d'extraction, l'extraction de l'astaxanthine a été effectuée pendant 30 min, 45 min, 60 min, 75 min et 90 min avec un rapport solide-liquide de 1:20 en acétone et une température de 30 °C. Le rendement de l'astaxanthine a augmenté avec le temps de manière croissante, atteignant une valeur maximale de 1346.38 µg/g pour une durée d'extraction de 60 min (figure 18). Au-delà de cette durée, le rendement de l'astaxanthine a diminué rapidement. Par conséquent, la durée d'extraction idéale dans la présente étude a été établie à 60 min.

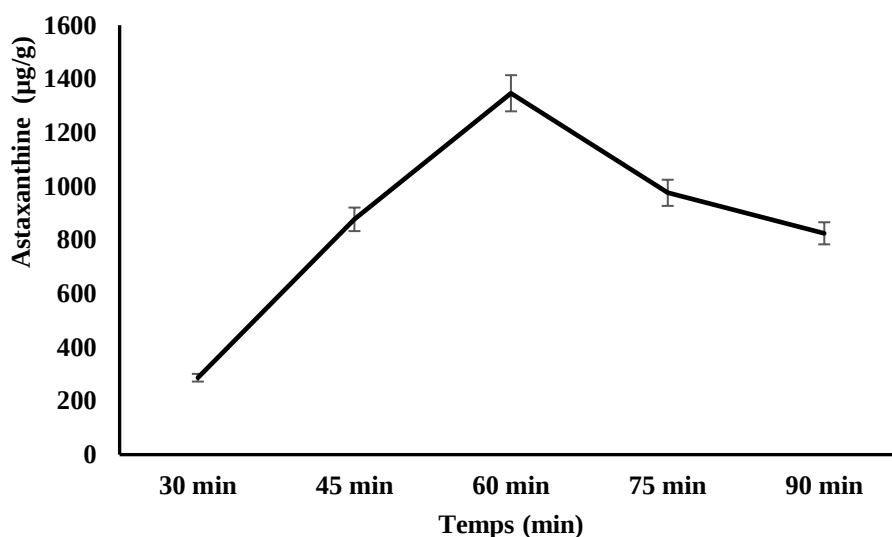


Figure 18 : Effet de la durée d'extraction sur le rendement d'extraction de l'astaxanthine avec l'acétone

Dans les travaux de Luo et al. (2024), la durée d'extraction optimale de l'astaxanthine à partir d'*Haematococcus pluvialis* a été déterminée à 70 min en utilisant un mélange d'acétate d'éthyle (EA) et d'éthanol (1:6, v/v) comme solvants. Une fois que la molécule a atteint l'équilibre, le rendement cesse d'augmenter.

2.2. Extraction de l'astaxanthine par les huiles végétales

2.2.1. Choix de l'huile

Une méthode d'extraction de l'astaxanthine à partir des sous-produits de crevettes a été étudiée en utilisant différentes huiles végétales comme solvants. Les résultats ont révélé une variation significative du rendement selon l'huile végétale employée (tableau 9). L'extraction conduite avec l'huile de tournesol a abouti au rendement en astaxanthine le plus élevé, soit 240.27 ± 14.04 µg/g, suivie respectivement par l'huile de noix de coco (233.82 ± 10.44 µg/g), puis l'huile d'olive traditionnelle (220.91 ± 9.53 µg/g). En revanche, l'huile d'argan a présenté la plus faible efficacité d'extraction, avec un rendement de 133.59 ± 6.37 µg/g.

Tableau 9 : Rendement d'astaxanthine obtenu avec différents huiles végétales (µg/g de déchets de crevettes)

Huile végétale	Astaxanthine
Huile de coco	233.82 ± 10.44
Huile d'olive traditionnelle	220.91 ± 9.53
Huile d'olive industrielle	182.75 ± 12.60
Huile d'argan	133.59 ± 6.37
Huile de tournesol	240.27 ± 14.04

Sachindra et Mahendrakar (2005) ont évalué et comparé l'efficacité d'extraction de l'astaxanthine à partir de crevettes roses en utilisant diverses huiles végétales, notamment l'huile de tournesol, d'arachide, de sésame, de moutarde, de soja, de noix de coco et de son de riz. Leur étude a révélé que l'huile de tournesol présentait le rendement le plus élevé en astaxanthine, avec une concentration de 26.3 µg/g. La solubilité ainsi que l'efficacité d'extraction des caroténoïdes dans les huiles végétales sont influencées par plusieurs paramètres physico-chimiques, tels que la densité, la viscosité et la polarité de l'huile (Teramukai et al., 2020).

Parjikolaei et al. (2015) ont mis en évidence que la faible viscosité de l'huile de tournesol est un facteur clé favorisant son efficacité, en facilitant la pénétration de l'huile dans les résidus de crevettes, ce qui accroît le coefficient de diffusion et optimise le transfert de l'astaxanthine vers la phase huileuse.

2.2.2. Rapport solide-liquide

Le rapport solide-liquide constitue un paramètre clé dans l'optimisation des procédés d'extraction, en influençant directement l'efficacité du transfert des composés bioactifs. Afin d'évaluer son impact sur le rendement en astaxanthine, des extractions ont été réalisées en faisant varier ce rapport de 1:5 à 1:30. Les résultats montrent une augmentation significative de la teneur en astaxanthine lorsque le rapport solide-liquide passe de 1:5 à 1:10, avec un rendement maximal atteignant 264.96 µg/g (figure 19). Au-delà de ce ratio, aucune amélioration significative du rendement n'a été observée ($p \geq 0,05$). Ces observations suggèrent qu'un rapport solide-liquide de l'ordre de 1:10 constitue un compromis optimal, permettant de garantir une disponibilité adéquate de solvant pour une diffusion efficace de l'astaxanthine, tout en limitant la dilution excessive.

Ces résultats sont en accord avec les travaux de Parjikolaei et al. (2015), qui ont observé un rendement maximal à un ratio liquide-solide de 1:9 (v/p) lors de l'extraction à l'aide d'huile de tournesol. L'augmentation du rapport favorise la pénétration du solvant au sein de la matrice cellulaire, ce qui se traduit par une amélioration des coefficients de transfert de masse (Silva et al., 2021). Zhao et al. (2019) ont démontré que l'augmentation du rapport huile-déchets optimise simultanément les rendements

d'extraction du pigment et de l'huile, soulignant ainsi l'importance capitale de ce paramètre pour maximiser l'extraction d'astaxanthine.

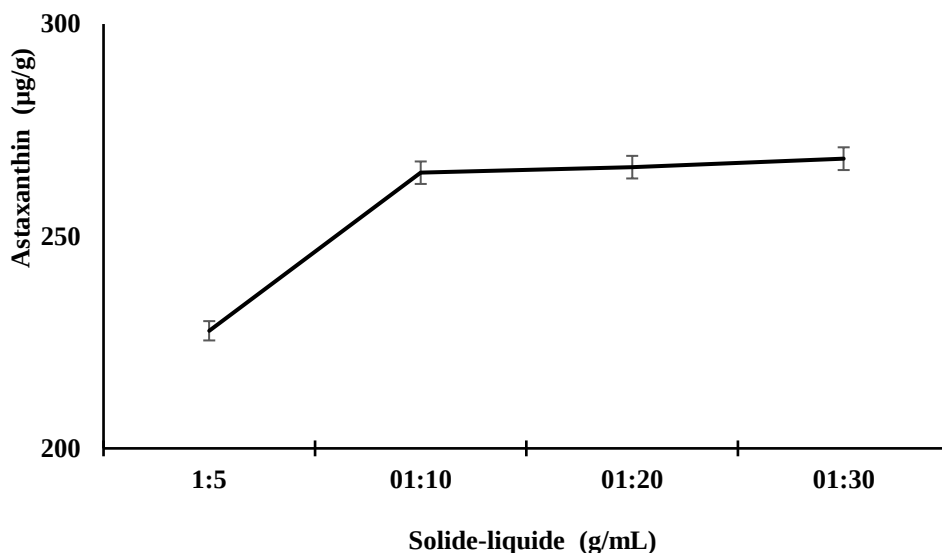


Figure 19 : Effet du rapport solide-liquide sur le rendement d'extraction de l'astaxanthine avec l'huile de tournesol

2.2.3. Température d'extraction

La [figure 20](#) illustre de manière évidente l'effet déterminant de la température d'extraction sur le rendement en astaxanthine. La teneur en astaxanthine a augmenté de près de 223.39 µg/g à 50 °C pour atteindre un maximum de 264.96 µg/g à 60 °C, indiquant qu'un chauffage modéré améliore l'efficacité de l'extraction du pigment, probablement en favorisant la pénétration du solvant et le transfert de masse grâce à la réduction de la viscosité de l'huile ([Goula et al., 2019](#)).

Cependant, une élévation supplémentaire de la température à 70 °C a entraîné une forte diminution de la teneur en astaxanthine, à environ 88.50 µg/g. Cette chute significative à haute température suggère une dégradation thermique importante de l'astaxanthine, connue pour sa sensibilité à la chaleur. Ce phénomène pourrait également s'expliquer par la formation de peroxydes liée à l'oxydation de l'huile à haute température, réduisant ainsi la qualité et la quantité des composés extraits ([Rao et al., 2007](#)). Ces résultats soulignent

l'importance d'optimiser la température d'extraction, avec 60 °C identifié comme condition optimale permettant de maximiser la récupération d'astaxanthine tout en minimisant les pertes par dégradation thermique.

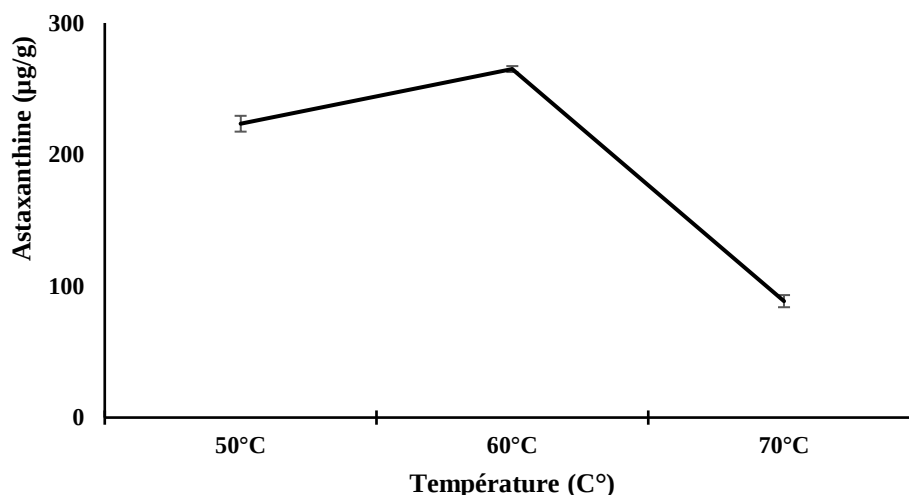


Figure 20 : Effet de la température sur le rendement d'extraction de l'astaxanthine avec l'huile de tournesol

2.2.4. Durée d'extraction

La [figure 21](#) illustre le rôle essentiel du temps d'extraction sur le rendement en astaxanthine obtenu à partir des sous-produits de crevettes. Les résultats révèlent une évolution nette en fonction du temps, avec une augmentation de la teneur en astaxanthine passant de 102.75 µg/g à 30 minutes pour atteindre un rendement maximal d'environ 264.96 µg/g à 60 minutes. Toutefois, un allongement du temps d'extraction à 90 minutes a conduit à une diminution significative, la teneur chutant à environ 122.88 µg/g.

Ces observations suggèrent qu'un temps d'extraction optimal est nécessaire pour assurer une pénétration complète du solvant et une solubilisation efficace du pigment, tandis qu'une exposition prolongée à la chaleur entraîne l'oxydation et la dégradation de l'astaxanthine extraite. Ces résultats soulignent l'importance d'un contrôle temporel précis au cours du processus d'extraction, 60 minutes représentant la durée optimale pour maximiser la récupération du pigment tout en minimisant sa dégradation.

Salazar-González *et al.* (2019) ont démontré qu'un temps de contact prolongé entre la matrice et l'huile de tournesol favorisait une interaction accrue entre les particules, conduisant à une concentration plus élevée en caroténoïdes dans les extraits.

Rudi *et al.* (2024) ont confirmé que, après 180 minutes à 60 °C, l'astaxanthine extraite dans des huiles végétales subit une oxydation en raison de l'oxydation des acides gras. De plus, l'huile végétale commence à s'oxyder après une certaine durée, et la perte d'éléments volatils peut réduire la quantité d'huile contenant de l'astaxanthine. Ahmadkelayeh *et al.* (2022) ont également démontré qu'à des températures élevées, le rendement en astaxanthine diminue avec l'allongement du temps d'extraction, soulignant l'importance de maîtriser précisément ces paramètres pour préserver la qualité du pigment.

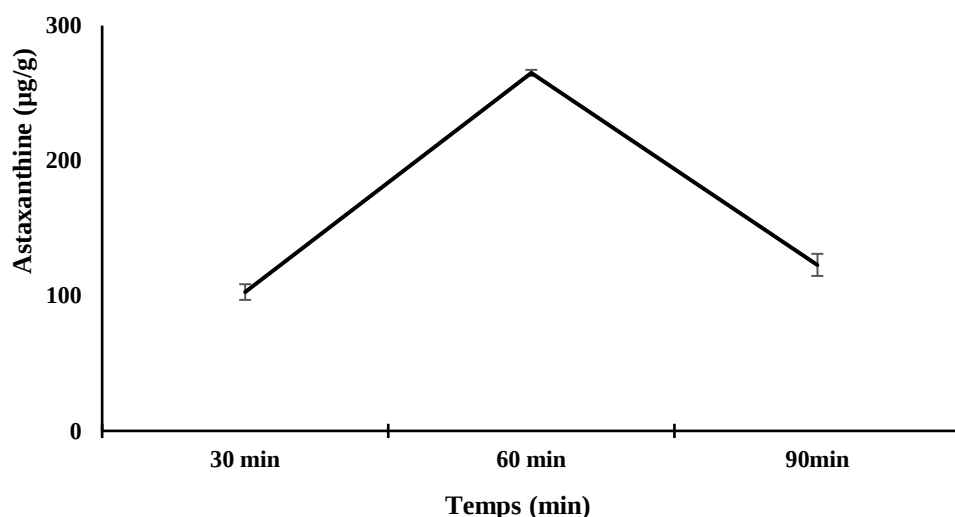


Figure 21 : Effet de la durée d'extraction sur le rendement d'extraction de l'astaxanthine avec l'huile de tournesol

3. Variation saisonnière de l'astaxanthine

Les crustacés ainsi que diverses autres espèces aquatiques ne sont pas capables de biosynthétiser l'astaxanthine. Ce caroténoïde est accumulé dans leurs tissus à travers la consommation de phytoplancton et de certaines microalgues, qui constituent la source primaire de ce pigment (Senthamil et Kumaresan, 2015).

La teneur en astaxanthine des déchets de crevettes a été analysée au cours des différentes saisons, et les résultats sont présentés dans le [tableau 10](#). Les concentrations en astaxanthine varient de manière significative ($p \leq 0,05$) au cours des quatre saisons. Les échantillons collectés en automne ont montré le rendement le plus élevé ($1355.36 \pm 22.71 \mu\text{g/g}$), suivis de ceux prélevés au printemps ($1211.34 \pm 5.13 \mu\text{g/g}$). Ces fluctuations semblent être liées à des variations du régime alimentaire des crevettes. En effet, les algues, principales sources de caroténoïdes, dépendent des conditions environnementales associées aux différentes saisons, la teneur en caroténoïdes des crevettes varie également.

Tableau 10 : Contenu en astaxanthine dans les déchets de crevettes au cours des différentes saisons

Saison	Astaxanthine ($\mu\text{g/g}$)
Automne	1355.36 ± 22.71
Hiver	881.72 ± 8.02
Printemps	1211.34 ± 5.13
Eté	659.99 ± 11.7

Cette variation pourrait aussi s'expliquer par des changements saisonniers du comportement alimentaire de la crevette, comme l'ont montré [Kennouche et Nouar \(2013\)](#) dans leur étude consacrée à l'intensité de l'alimentation et à la condition somatique de *Aristaeomorpha antennatus* en Algérie. Leurs résultats indiquent que le coefficient de vacuité (proportion d'estomacs vides) atteint son minimum au printemps, traduisant une activité alimentaire soutenue durant la phase pré-reproductive, tandis qu'il est maximal en été, période marquée par une diminution de l'activité trophique liée à la reproduction. À l'automne, ce coefficient diminue de nouveau, témoignant d'une reprise de l'alimentation visant à reconstituer les réserves énergétiques après la reproduction. En parallèle, le facteur de condition relative (K'), indice de l'état corporel normalisé à la longueur, atteint sa valeur maximale en automne, traduisant la restauration des réserves énergétiques mobilisées durant les phases reproductives.

Yanar *et al.* (2004) ont étudié les variations saisonnières des caroténoïdes chez deux espèces de crevettes provenant de Turquie, *Penaeus semisulcatus* et *Metapenaeus monoceros*. Leur étude a mis en évidence que, chez les deux espèces, les concentrations en caroténoïdes étaient significativement plus élevées au printemps et en été qu'en hiver et en automne. Les auteurs ont attribué ces fluctuations de la teneur en caroténoïdes aux variations saisonnières qui influencent la qualité et la disponibilité des algues, qui constituent une source alimentaire directe ou indirecte pour les crevettes.

Cette différence observée dans les résultats peut être attribuée aux variations géographiques. L'Algérie, en particulier, connaît des températures estivales élevées peu favorables à la croissance des microalgues. La température joue un rôle crucial dans la production d'astaxanthine chez les algues, et ses fluctuations peuvent également expliquer des variations de la teneur en astaxanthine. Selon une étude de Hong *et al.* (2015), des températures comprises entre 25 et 28 °C favorisent la synthèse d'astaxanthine chez *Haematococcus pluvialis*. Cependant, des températures supérieures à 30 °C peuvent induire un stress chez les algues et inhiber la photosynthèse, comme le rapporte Oslan *et al.* (2021). La teneur totale en caroténoïdes tend à être plus élevée durant l'automne et le printemps, conditions favorables à la synthèse d'astaxanthine, qui se produit généralement entre 24 et 28 °C sous une intensité lumineuse adéquate.

4. Effet du traitement thermique sur la stabilité de l'astaxanthine

L'exposition à la chaleur en présence d'oxygène entraîne des processus de dégradation moléculaire et d'isomérisation structurale de l'astaxanthine, compromettant ainsi la qualité nutritionnelle et fonctionnelle du pigment utilisé comme colorant alimentaire (Zhou *et al.*, 2018). L'étude de l'impact des procédés thermiques sur la teneur en astaxanthine est donc un enjeu clé. La concentration d'astaxanthine a été quantifiée dans la chair et les déchets de crevettes, avant et après une cuisson par ébullition de 10 minutes. Les sous-produits, qu'ils soient crus ou traités thermiquement, présentent une teneur supérieure en astaxanthine comparativement à la chair (figure 22). Après cuisson, une perte significative de 43% et 31% a été enregistrée dans les sous-produits et la chair, respectivement.

Ces observations corroborent les résultats de [Sachindra et al. \(2005\)](#), qui ont mis en évidence une variation du contenu total en caroténoïdes selon les parties des crevettes étudiées, avec des concentrations comprises entre 10.4 et 17.4 µg/g dans la chair, 35.8 à 153.1 µg/g dans la tête, et 59.8 à 104.7 µg/g dans la carapace. [Swastawati \(2018\)](#) a évalué les effets du traitement thermique par cuisson, fumage et friture à 100 °C pendant 10 minutes sur les caractéristiques pigmentaires et physico-chimiques des crevettes tigrées. Ces auteurs ont constaté des impacts significatifs ($P < 0.05$) sur la teneur en astaxanthine, le pH, l'humidité, la teneur protéique, la salinité, l'activité de l'eau (A_w) et la coloration. Les teneurs enregistrées étaient 132.79 ± 1.5 µg/g dans les crevettes fraîches, 82.89 ± 0.92 µg/g après cuisson à l'eau, 78.28 ± 0.1 µg/g après fumage, et 91.35 ± 2.59 µg/g après friture.

[Zhao et al. \(2006\)](#) ont étudié la stabilité de l'astaxanthine soumise à des traitements par micro-ondes et ultrasons à diverses intensités. Ils ont démontré que le micro-ondes induisait une conversion exclusive de l'astaxanthine tout-trans en formes cis, principalement 13-cis-astaxanthine, tandis que les ultrasons provoquaient la dégradation du pigment en composés incolores. Par ailleurs, [Zeb et Murkovic \(2011\)](#) ont incorporé de l'astaxanthine dans des huiles d'olive raffinées chauffées à 110 °C pendant des durées comprises entre 1 et 14 heures, observant une dégradation et une isomérisation progressive corrélées à la durée du traitement thermique.

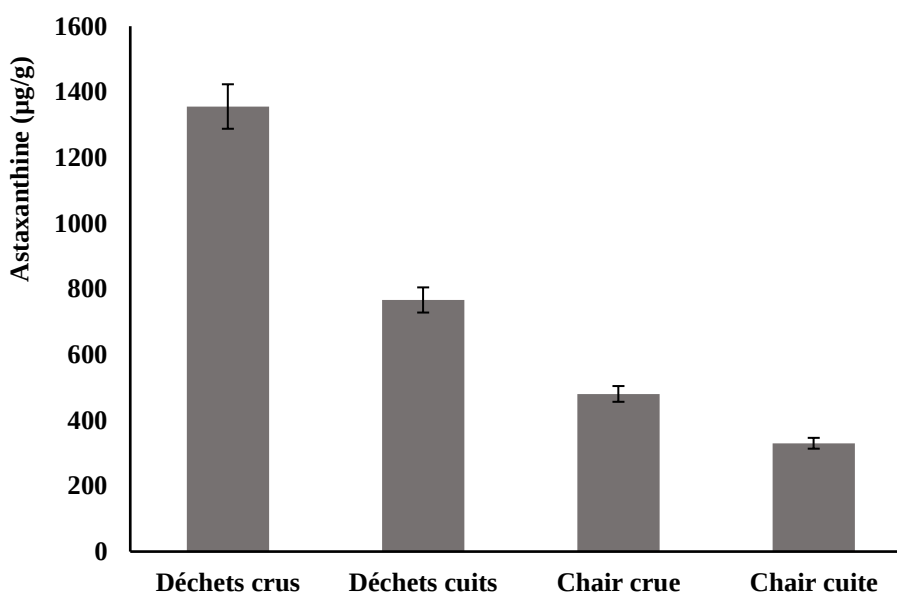


Figure 22 : Effet du traitement thermique sur la stabilité de l'astaxanthine

5. Identification et quantification de l'astaxanthine par HPLC-DAD-APCI-MS

La méthode HPLC-DAD-APCI-MS constitue une technique analytique rapide, sensible et fiable pour l'identification des isomères géométriques d'astaxanthine présents dans les matrices complexes telles que les sous-produits issus de la crevette rouge *Aristeus antennatus*. Dans cette étude, une phase stationnaire C30 a été utilisée pour permettre la séparation des isomères cis et trans de l'astaxanthine, compte tenu de leur forte similitude structurale. Pour les isomères géométriques de l'astaxanthine, la similarité des spectres de masse rend leur différenciation complexe ; par conséquent, l'identification des a été réalisée à partir des spectres UV-visible, des temps de rétention, et de l'ordre d'élution.

Le chromatogramme obtenu (figure 23) révèle quatre pics majeurs correspondant aux isomères 13-cis, all-trans, 15-cis et 9-cis d'astaxanthine. La littérature rapporte que l'astaxanthine naturelle est généralement présente sous forme d'un mélange de ces isomères géométriques, avec une prédominance de la forme all-trans, accompagnée de faibles proportions des isomères 9-cis, 13-cis et 15-cis (Yao *et al.*, 2022 ; Nishida *et al.*, 2023).

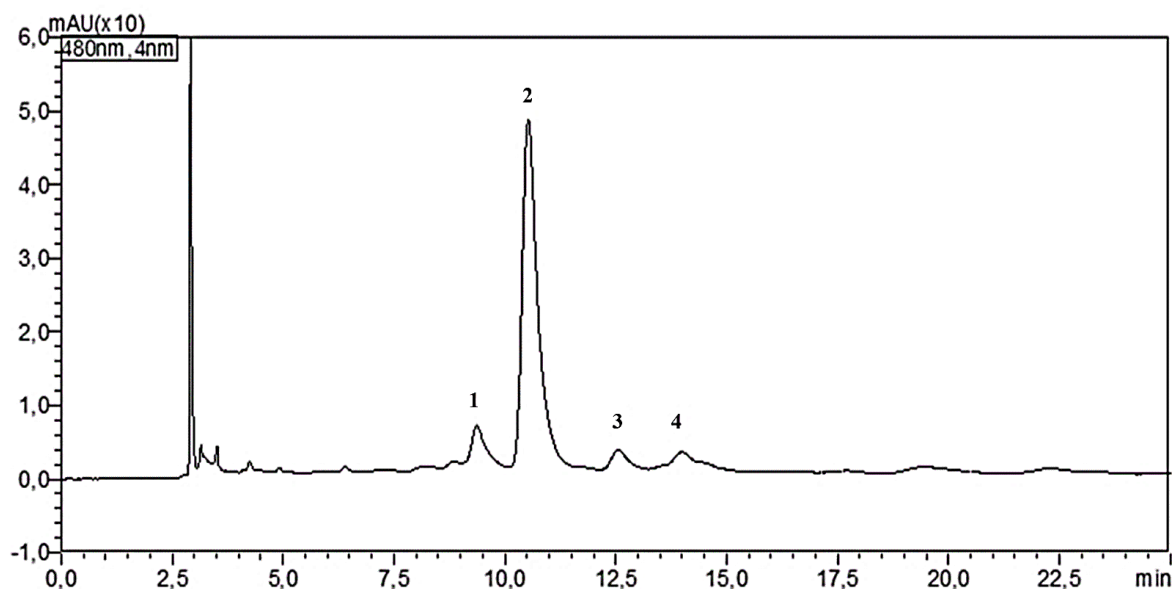


Figure 23 : Identification des isomères d'astaxanthine issus des sous-produits de crevettes (*A. antennatus*) par HPLC-DAD-APCI-MS. 1. 13-cis astaxanthine; 2. All-trans astaxanthine; 3. 15-cis astaxanthine; 4. 9-cis astaxanthine.

Ces isomères présentent des spectres UV-visible distincts qui permettent une identification aisée (Britton *et al.*, 2012 ; Nishida *et al.*, 2023). Yang *et al.* (2015) ont expliqué que la présence d'une double liaison cis provoque un déplacement du maximum d'absorption dans les spectres UV-visible de all-trans astaxanthine vers une longueur d'onde plus courte. Par rapport à all-trans astaxanthine, les isomères 9-cis et 13-cis affichent des décalages hypsochromes compris entre 4 nm et 8 nm. De plus, la conversion réversible entre les isomères all-trans et cis peut être induite par des conditions environnementales telles que la température élevée, l'exposition lumineuse, la présence d'acides ou de solvants organiques et des ions métalliques (Zhao *et al.*, 2005 ; Brotosudarmo *et al.*, 2020 ; Yao *et al.*, 2022).

L'analyse quantitative des sous-produits de *A. antennatus* a identifié all-trans astaxanthine comme le principal constituant, avec une concentration moyenne de 499.49 ± 4.71 µg/g, suivie par les isomères cis 13 (121.23 ± 1.94 µg/g) et cis 9 (100.08 ± 2.72 µg/g) selon les données du [tableau 11](#). La concentration totale des isomères d'astaxanthine détectés dans les déchets s'établit à 812.34 ± 7.33 µg/g, témoignant de la richesse de cette matrice en caroténoïdes.

Tableau 11 : Identification et quantification des isomères d'astaxanthine issus des sous-produits de crevettes (*A. antennatus*) par HPLC-DAD-APCI-MS dans les déchets.

Pic	tr (min)	λmax	[M+H] ⁺	Composé	Quantification (µg/g)
1	9.37	369 468	597	13-cis-astaxanthine	121.23 ± 1.94
2	10.79	476	597	All-trans astaxanthine	499.49 ± 4.71
3	12.55	469	597	15-cis-astaxanthine	91.52 ± 1.68
4	13.98	468	597	9-cis -astaxanthine	100.08 ± 2.72
					Total 812.34 ± 7.33

De Aguiar Saldanha Pinheiro et al. (2023) ont examiné la teneur en astaxanthine chez la crevette rouge (*Aristeus antennatus*) et la crevette camarote (*Melicertus kerathurus*), en utilisant différentes techniques d'extraction. Ils ont rapporté que *A. antennatus* présente les concentrations les plus élevées en astaxanthine, variant de 169.6 ± 2.6 µg/g poids sec à 585.90 ± 6.9 µg/g. Des valeurs plus faibles ont été obtenues pour *M. kerathurus*, de 47.3 ± 1.2 µg/g poids sec à 213.1 ± 3.4 µg/g poids sec. Les données relatives à la caractérisation des isomères de l'astaxanthine chez la crevette rouge (*A. antennatus*) sont limitées, la majorité des études ayant été réalisées sur d'autres espèces. La teneur en astaxanthine peut varier chez les crustacés en fonction de l'espèce, de la partie du corps analysée, de la qualité des caroténoïdes dans l'alimentation, des conditions environnementales et des méthodes d'extraction employées (Sachindra et al., 2005 ; Su et al., 2018 ; De Aguiar Saldanha Pinheiro et al., 2023).

Su et al. (2018) ont mené une étude comparative sur les caroténoïdes présents dans différentes parties de quatre espèces de crevettes élevées en Chine : *Penaeus monodon*, *Fenneropenaeus chinensis*, *Litopenaeus vannamei* et *Exopalaemon carinicauda*. Il a été déterminé qu'all-trans astaxanthine était le caroténoïde dominant, représentant de 70.44% à 77.11% du total des caroténoïdes identifiés dans les carapaces de ces espèces. La teneur en 13-cis astaxanthine variait de 10.45% à 16.95%, tandis que la proportion de 9-cis astaxanthine oscillait entre 5.81% et 10.36%. Enfin, la teneur en 15-cis astaxanthine dans les carapaces allait de 1.67% à 3.42%. En comparaison, nos résultats ont montré que ces composés représentaient respectivement 61.49%, 14.92%, 12.32% et 11.27% dans les déchets d'*Aristeus antennatus*.

6. Activités biologiques de l'astaxanthine

6.1. Activité antioxydante

L'activité antioxydante de l'extrait d'astaxanthine issu des déchets de la crevette rouges *A. antennatus* a été évaluée par les tests de piégeage des radicaux libres DPPH et par la capacité réductrice au ferricyanure de potassium (PFRAP).

Dans les deux tests (figure 24 et 25), l'activité antioxydante de l'extrait d'astaxanthine augmentait proportionnellement à l'augmentation des concentrations ; elle

s'est révélée plus puissante que celle de l'acide ascorbique. Dans le test DPPH, le pourcentage d'inhibition dépassait 40% dès 0.005 mg/mL d'extrait d'astaxanthine et progressait de manière constante pour atteindre 72% à la concentration de 0.125 mg/mL.

Pour le test de pouvoir réducteur, les valeurs d'absorbance de l'extrait ainsi que de l'acide ascorbique augmentaient progressivement avec l'élévation de la concentration, mettant en évidence une relation dose-dépendante. En général, une augmentation de l'absorbance est corrélée à une activité antioxydante élevée. À 0.25 mg/mL, l'extrait d'astaxanthine affichait une absorbance de 0.29 ± 0.01 , surpassant celle de l'acide ascorbique (0.25 ± 0.02). Cette observation indique que le pouvoir réducteur de l'astaxanthine excède celui de l'acide ascorbique. La concentration d'extrait d'astaxanthine nécessaire pour engendrer une inhibition de 50% du radical DPPH est presque 71% inférieure à celle obtenue avec l'acide ascorbique ($25.42 \pm 1.43 \mu\text{g/mL}$ et $87.25 \pm 3.15 \mu\text{g/mL}$, respectivement).

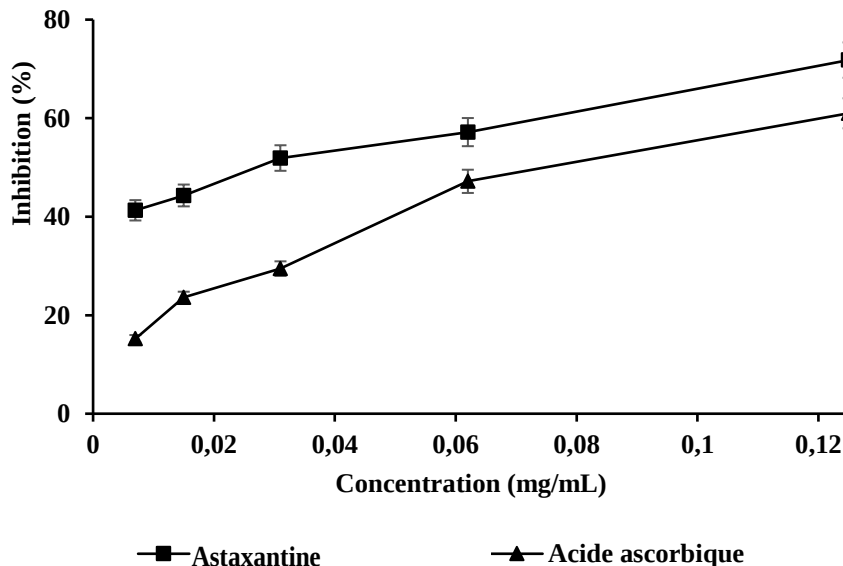


Figure 24 : Activité antiradicalaire de l'astaxanthine par piégeage du radical libre DPPH

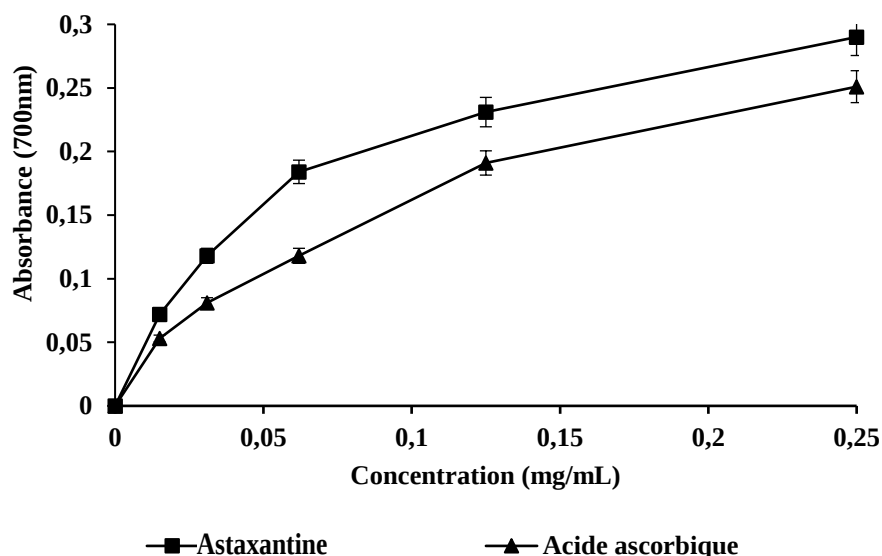


Figure 25 : Pouvoir réducteur du ferricyanure de potassium par l'astaxanthine

Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par [Chintong et al. \(2019\)](#), qui ont étudié l'activité antioxydante de l'astaxanthine extraite des carapaces de crevettes (*Litopenaeus vannamei*) par extraction à l'éthanol. Leur extrait a démontré une activité antioxydante plus forte que celle de l'acide ascorbique avec un IC_{50} de $17.5 \pm 3.6 \mu\text{g/mL}$.

Dans une autre étude, [Seeger et al. \(2023\)](#) ont montré que la forme purifiée d'astaxanthine isolée de *Corynebacterium glutamicum* présentait une valeur EC_{50} de $4.5 \pm 0.2 \mu\text{g/mL}$, démontrant une activité antioxydante environ cinq fois supérieure à celle du BHT et de l'acide ascorbique, et presque neuf fois supérieure à celle de l'astaxanthine synthétique (IC_{50} de $41.9 \pm 0.7 \mu\text{g/mL}$).

L'astaxanthine possède d'excellentes propriétés antioxydantes et est reconnue pour jouer un rôle majeur dans la régulation du stress oxydatif, de l'inflammation, du cycle cellulaire et du métabolisme lipidique au sein de l'organisme. Ces fonctions contribuent favorablement à la santé cutanée, à la fonction visuelle, cardiovasculaire, neurologique, ainsi qu'à la performance physique et à l'efficacité du système immunitaire ([Dang et al., 2024](#)). Les caroténoïdes présentent une chaîne polyénique comportant plusieurs doubles liaisons conjuguées, assurant des fonctions antioxydantes par la neutralisation de l'oxygène singulet et la capture des radicaux libres afin d'interrompre les réactions en chaîne. L'astaxanthine

se distingue par une configuration chimique particulière, caractérisée par la présence de groupes hydroxyle et cétone sur chaque cycle ionone, ce qui confère à cette molécule des effets antioxydants puissants (Ambati et al., 2014).

La structure particulière de l'astaxanthine est capable de traverser la bicouche lipidique de la membrane cellulaire, offrant ainsi une défense puissante contre les dommages oxydatifs. Elle est capable de capter et de neutraliser les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les radicaux libres (tels que l'anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène et l'oxygène singulet) dans les couches interne et externe de la membrane cellulaire. Contrairement à la majorité des antioxydants qui agissent exclusivement soit sur la face interne (par exemple la vitamine E et le β -carotène), soit sur la face externe de la membrane (par exemple la vitamine C) (Hussein et al. 2006 ; Sztretye et al., 2019).

6.2. Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne de l'astaxanthine extraite des déchets de crevette *A. antennatus* a été évaluée contre deux souches de bactéries Gram-positives (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*) et trois bactéries Gram-négatives (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella typhimurium*). Les résultats sont présentés dans le [tableau 12](#).

L'effet de l'astaxanthine s'est avéré plus marqué sur les bactéries Gram-positives que sur les bactéries Gram-négatives. Cette différence est attribuée aux variations structurales de leur enveloppe cellulaire ; bien que les bactéries Gram-positives possèdent une paroi cellulaire plus épaisse que les Gram-négatives, les antimicrobiens peuvent pénétrer la couche de peptidoglycane. En revanche, la pénétration est plus difficile chez les bactéries Gram-négatives en raison de la présence d'une membrane externe agissant comme une barrière protectrice essentielle à leur survie, ce qui n'est pas le cas pour les bactéries Gram-positives (Tetteh et al., 2020).

La souche la plus sensible vis-à-vis l'astaxanthine était *S. aureus* avec une valeur de CMI de 25 $\mu\text{g/mL}$, suivie par *L. monocytogenes* (50 $\mu\text{g/mL}$). En revanche, les bactéries Gram-négatives ont montré une résistance plus importante avec des concentrations de CMI

plus élevées, allant de 750 à 1500 µg/mL. Il a été rapporté par [Karpiński et al. \(2025\)](#) que l'astaxanthine présente un effet antibactérien modéré à faible. Les CMI pour les bactéries Gram-positives (*Staphylococcus*, *Streptococcus* et *Enterococcus*) variaient de 1250 à 2500 µg/mL. Quant aux bactéries Gram-négatives, les concentrations minimales inhibitrices étaient de 2500 µg/mL pour *Salmonella Paratyphi A*, *Shigella flexneri* et *Yersinia enterocolitica*, et de 2500 à 5000 µg/mL pour *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*.

À titre de comparaison, l'antibiotique de référence, la gentamicine, a présenté des valeurs de concentration minimale inhibitrice (CMI) significativement plus faibles pour l'ensemble des souches testées, comprises entre 0.25 et 2 µg/mL. Ces résultats confirment que l'astaxanthine présente une activité antimicrobienne limitée à modérée lorsqu'elle est comparée aux antibiotiques conventionnels.

Tableau 12 : Concentrations minimales inhibitrices (µg/mL) de l'astaxanthine issue des sous-produits de la crevette rouge *A. antennatus*

Souches	Astaxanthine	Gentamicine
<i>Escherichia coli</i>	750	0.5
<i>Staphylococcus aureus</i>	25	0.25
<i>Listeria monocytogenes</i>	50	0.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1500	1
<i>Salmonella typhimurium</i>	1500	2

[Reyhani Poul et Yeganeh \(2023\)](#) ont étudié l'effet antimicrobien des formes libres et encapsulées d'astaxanthine extraite de *Haematococcus pluvialis* contre quatre souches Gram-positives (*Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus iniae* et *Bacillus subtilis*), ainsi que trois bactéries Gram-négatives (*Yersinia ruckeri*, *Escherichia coli* et *Enterobacter aerogenes*). Ils ont montré que l'encapsulation augmente le potentiel

antimicrobien de ce caroténoïde. Les valeurs de CMI obtenues pour *S. aureus* et *L. monocytogenes* étaient plus élevées que dans notre étude (200 et 100 µg/mL respectivement). En revanche, la CMI pour *E. coli* était seulement de 400 µg/mL. La différence d'activité de l'astaxanthine pourrait être liée à la source du pigment, à la méthode d'extraction, ainsi qu'à la présence ou non d'une étape de purification.

6.3. Activité anti-inflammatoire

6.3.1. Test d'inhibition de la dénaturation de l'albumine (BSA)

L'inflammation représente un mécanisme immunitaire inné indispensable, permettant à l'organisme d'initier une réponse de protection face aux agents pathogènes, aux lésions tissulaires, et à divers stimuli nocifs (Bougandora et al., 2016). La dénaturation protéique désigne la perte de la conformation spatiale (secondaire, tertiaire) des protéines sous l'action de facteurs physiques tels que la chaleur, entraînant ainsi une altération de leur fonctionnalité biologique (Kherbache, 2023). La dénaturation des protéines tissulaires est reconnue comme une étape déterminante dans le développement des processus inflammatoires et des pathologies arthritiques (Bougandora et al., 2016).

Dans le cadre du modèle *in vitro* d'évaluation de l'activité anti-inflammatoire, l'inhibition de la dénaturation de l'albumine par l'astaxanthine issue des coproduits de crevettes ainsi que par le diclofénac a été analysée quantitativement. Les résultats indiquent que ces deux agents présentent un effet inhibiteur significatif vis-à-vis de la dénaturation de l'albumine, effet qui s'accroît de manière dose-dépendante dans l'intervalle de concentrations étudié (15–250 µg/mL) (figure 26).

La progression de l'inhibition de la dénaturation de l'albumine en fonction de la concentration des deux agents, astaxanthine et diclofénac, révèle une dynamique dose-dépendante caractéristique. À faible concentration (15 µg/mL), l'astaxanthine exerce une inhibition légèrement supérieure à celle du diclofénac ($14.39 \pm 0.36\%$ et $11.14 \pm 0.16\%$, respectivement). Toutefois, dès 31.25 µg/mL, le diclofénac manifeste une efficacité croissante et prédominante sur toute la gamme testée, culminant à $80.88 \pm 1.02\%$ contre $68,08 \pm 0.66\%$ pour l'astaxanthine à 250 µg/mL. Le diclofénac, anti-inflammatoire non

stéroïdien de référence, présente systématiquement un pouvoir inhibiteur supérieur à celui de l'astaxanthine.

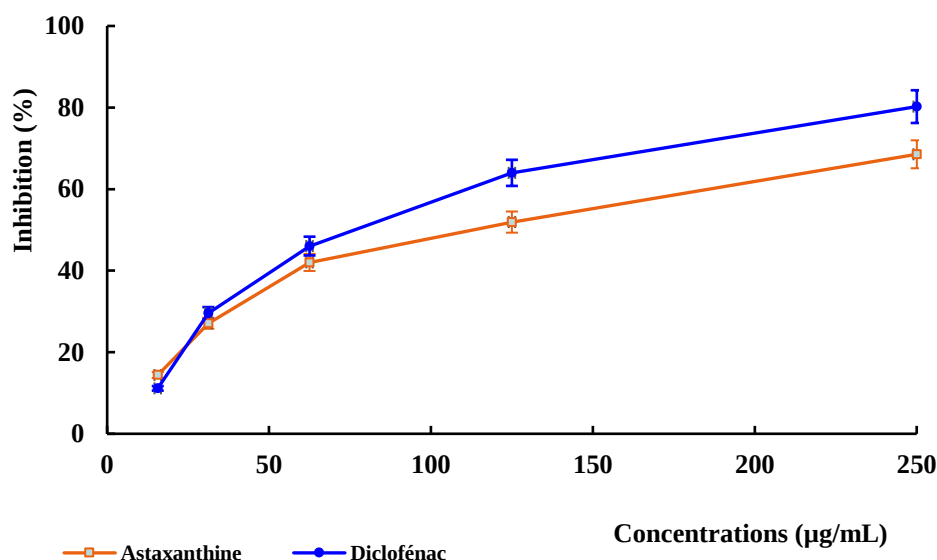


Figure 26 : Courbes dose-réponse de l'inhibition de la dénaturation de l'albumine par l'astaxanthine et le diclofénac.

Les courbes dose-réponse des deux composés présentent des profils similaires : elles montrent une augmentation plus marquée du pourcentage d'inhibition aux faibles concentrations (15 à 50 µg/mL), suivie d'une progression plus modérée à des concentrations plus élevées. Cette évolution suggère un phénomène de cinétique de saturation en approchant des concentrations maximales. Ces résultats démontrent que, bien que l'astaxanthine manifeste une activité anti-dénaturation substantielle, son efficacité demeure inférieure à celle du traitement standard. Néanmoins, l'effet inhibiteur significatif observé pour l'astaxanthine souligne son potentiel en tant qu'agent anti-inflammatoire naturel, particulièrement pertinent dans le cadre de la recherche d'alternatives aux médicaments synthétiques.

L'astaxanthine a démontré un potentiel significatif dans la modulation de l'inflammation chronique et aiguë associée à diverses pathologies. Les études expérimentales ont mis en lumière ses effets bénéfiques dans des modèles de troubles neurodégénératifs, de diabète, de maladies gastro-intestinales, d'inflammations rénales, ainsi

que de pathologies cutanées et oculaires (Chang & Xiong, 2020 ; Kohandel *et al.*, 2022 ; Wu *et al.*, 2024). Ces résultats confirment l'astaxanthine comme un candidat prometteur pour le traitement des maladies inflammatoires. Par ailleurs, de nombreuses investigations *in vitro* et *in vivo* ont validé ses effets anti-inflammatoires, renforçant ainsi son intérêt en tant qu'agent thérapeutique prometteur dans la prise en charge des affections inflammatoires (Hwang *et al.*, 2020 ; Li *et al.*, 2020 ; Pereira *et al.*, 2021 ; Lee *et al.*, 2022).

Dans une étude menée par Li *et al.* (2015), les interactions du β -carotène et de l'astaxanthine avec l'albumine humaine (HSA) et bovine (BSA) ont été analysées par des techniques spectroscopiques. La liaison de l'astaxanthine aux albumines était plus importante que celle du β -carotène, l'ordre d'affinité observé étant : astaxanthine-HSA > astaxanthine-BSA > β -carotène-HSA > β -carotène-BSA. Ces liaisons sont principalement médiées par des interactions hydrophobes et électrostatiques, impliquant les sites I et II des albumines, avec une prédominance pour le site I.

6.3.2. Test de stabilisation de la membrane des érythrocytes

Les résultats du test de stabilisation de la membrane des érythrocytes (figure 27) mettent en évidence une activité protectrice dose-dépendante pour les deux agents évalués, à savoir le diclofénac et l'astaxanthine. Sur l'ensemble des concentrations testées (de 31.125 à 250 $\mu\text{g/mL}$), le diclofénac affiche systématiquement un pourcentage d'inhibition supérieur à celui de l'astaxanthine, atteignant une valeur maximale de $63.89 \pm 1.68\%$ à 250 $\mu\text{g/mL}$ contre $42.62 \pm 1.27\%$ pour l'astaxanthine. Cette supériorité du diclofénac confirme son efficacité reconnue comme anti-inflammatoire de référence dans la stabilisation membranaire. Toutefois, l'augmentation progressive de l'effet observé avec l'astaxanthine indique un réel potentiel en tant qu'alternative naturelle, même si sa puissance inhibitrice demeure moindre que celle de la molécule de référence dans ce modèle expérimental.

Chisté *et al.* (2014) ont étudié l'effet anti-hémolytique de différents caroténoïdes (lutein, zeaxanthin, β -carotene, and lycopene) sur les érythrocytes humains. Leur résultat a montré que les caroténoïdes ont inhibé l'hémolyse d'une manière dose dépendante, dont le lycopène s'est révélé le plus efficace, suivi du β -carotène et de la lutéine puis la zéaxanthine.

Ces composés antioxydants peuvent inhiber l'hémolyse par la conversion des radicaux libres en espèces non réactives.

L'étude menée par Nakagawa *et al.* (2011) sur l'effet de l'astaxanthine sur la peroxydation des phospholipides dans les érythrocytes humains, a montré que l'astaxanthine ingérée est absorbée, distribuée et intégrée dans les érythrocytes, où elle exerce des effets antioxydants en réduisant de manière significative la teneur en phospholipides hydroperoxydes (PLOOH) des érythrocytes. Par ailleurs, l'effet antioxydant de l'astaxanthine est plus marqué au niveau de la membrane des érythrocytes qu'au sein du plasma.

La capacité de l'astaxanthine à inhiber l'hémolyse des globules rouges peut être attribuée à son puissant pouvoir antioxydant, qui lui permet de limiter les dommages oxydatifs sur la membrane cellulaire, principaux contributeurs à la lyse érythrocytaire, mais elle n'interagit pas directement avec les enzymes de l'inflammation. En revanche, le diclofénac agit par un mécanisme pharmacologique direct en inhibant la cyclooxygénase (COX), enzyme clé dans la synthèse des médiateurs de l'inflammation (prostaglandines), cela lui confère une efficacité supérieure en tant qu'anti-inflammatoire.

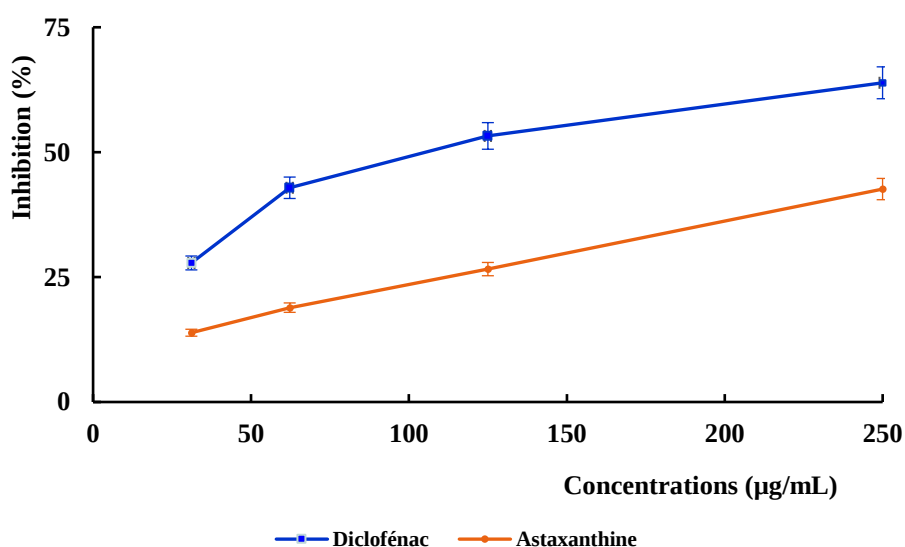


Figure 27 : Inhibition d'hémolyse des globules rouges par l'astaxanthine et le diclofénac.

Grâce à sa structure particulière, l'astaxanthine s'installe dans la membrane des érythrocytes favorisant leur flexibilité et améliorant la circulation sanguine en exerçant son effet antioxydant (Pereira et al., 2021). Des études antérieures ont rapporté que l'astaxanthine est intégrée dans la bicouche lipidique des membranes cellulaires, où elle joue un rôle de bouclier contre les attaques oxydatives, en stabilisant la structure lipidique et en réduisant les pertes de composants intracellulaires (Ambati et al., 2014).

6.3.3. Activité anti-inflammatoire *in silico* de l'astaxanthine

Analyse structurelle et mécanistique de l'inhibition du NF- κ B

Le NF- κ B (Nuclear Factor-kappa B, facteur de transcription central dans la régulation des réponses inflammatoires) est une protéine essentielle qui contrôle la réponse inflammatoire et la défense immunitaire. Lorsqu'il est activé par des signaux comme les cytokines ou les infections, il se déplace dans le noyau des cellules pour déclencher la production de protéines responsables de l'inflammation et de la survie cellulaire. Cette activation est nécessaire pour combattre les infections, mais un NF- κ B trop actif ou prolongé peut causer des maladies inflammatoires chroniques, comme l'arthrite ou la maladie de Crohn. Ainsi, il joue un rôle clé dans l'équilibre entre défense et inflammation excessive (Roberti et al., 2022).

Sélectivité de la poche C4

La poche C4 de la protéine NF- κ B, caractérisée par un volume réduit (462 Å³), présente une affinité exceptionnelle pour l'astaxanthine, comme le démontre un score de docking Vina de -7,9 kcal/mol (figure 28). Cette sélectivité remarquable s'explique notamment par plusieurs facteurs :

Optimisation stérique : la structure rigide de l'astaxanthine, comportant 13 doubles liaisons conjuguées (séquence d'atomes à électrons délocalisés favorisant la rigidité et l'interaction moléculaire), s'ajuste précisément à la géométrie restreinte de la poche C4. Cette adaptation moléculaire minimise les conflits d'encombrement (chocs stériques) et maximise les contacts favorables, assurant ainsi une liaison stable du ligand.

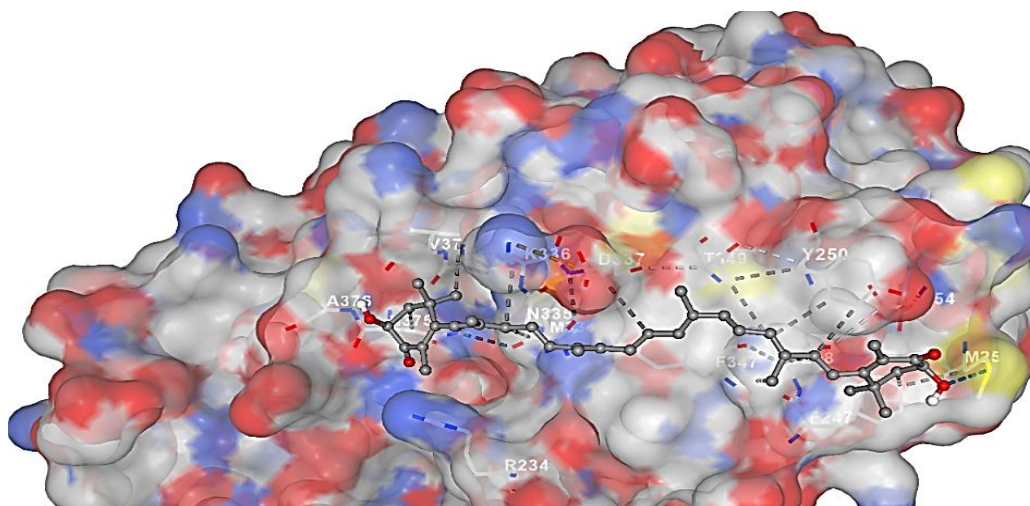


Figure 28 : Représentation de la surface et sélectivité de la poche C4 dans l'interaction NF-κB – Astaxanthine

Environnement hydrophobe ciblé : les résidus PHE247 (phénylalanine 247) et VAL248 (valine 248) forment un « nid hydrophobe » particulièrement propice à l'ancrage des cycles β -ionone présents aux extrémités de l'astaxanthine. Les distances interatomiques mesurées (3,8–4,2 Å) correspondent à la plage optimale des interactions van der Waals (forces de faible intensité régissant l'attraction entre molécules proches), ce qui contribue de façon marquée à la stabilité du complexe formé. Ces résultats *in silico* corroborent les données expérimentales montrant que l'astaxanthine inhibe effectivement l'activation de NF-κB et la signalisation inflammatoire en aval ; cela repose sur la stabilisation des interactions au sein des sites régulateurs clés de la protéine (Sachindra et Mahendrakar, 2005 ; Wu et al., 2024). Les approches de docking moléculaire et de pharmacologie des réseaux confirment par ailleurs la forte affinité de l'astaxanthine pour NF-κB et d'autres cibles inflammatoires, soutenant ainsi son potentiel comme agent chimio-préventif et anti-inflammatoire (Kavitha et al., 2013 ; Jiang et al., 2024).

Dynamique des liaisons hydrogène

L'analyse des interactions polaires met en évidence deux liaisons hydrogène déterminantes pour la stabilité et la spécificité de la fixation de l'astaxanthine dans la poche C4 de NF-κB : **ASN335 (asparagine 335, 2,9 Å)** : cette liaison hydrogène présente un angle donneur-accepteur de 150–160°, très proche de l'idéal théorique de 180°, ce qui indique une force de liaison maximale et un alignement géométrique optimal. **LYS336 (lysine 336,**

3,1 Å) : cette interaction renforce davantage la stabilité des groupes hydroxyle de l'astaxanthine, consolidant ainsi l'ensemble du complexe ligand-protéine.

Chaque liaison hydrogène contribue à hauteur de $-1,5$ kcal/mol à l'énergie totale de liaison, soit près de 40 % de l'affinité globale. Cette contribution énergétique significative souligne l'importance des interactions polaires spécifiques dans l'inhibition sélective à haute affinité de NF- κ B par l'astaxanthine (figure 29). Ces résultats concordent avec les caractéristiques moléculaires uniques de l'astaxanthine, notamment ses groupes hydroxyle et cétone, reconnus pour faciliter la formation de liaisons hydrogène fortes et contribuer à ses puissantes propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires (Davinelli et al., 2022 ; Jiang et al., 2024). En stabilisant des résidus clés au sein de la poche de liaison de NF- κ B, l'astaxanthine module efficacement les voies de signalisation inflammatoires, soutenant ainsi son potentiel thérapeutique dans les pathologies liées à l'inflammation (Jiang et al., 2024).

Une constatation particulièrement remarquable concerne l'interaction orbitale atypique π - σ établie entre le cycle β -ionone de l'astaxanthine et le résidu PHE347 de NF- κ B : le recouvrement partiel des orbitales π (liens doubles conjugués de l'astaxanthine) et σ (chaîne latérale de PHE347) génère une énergie de stabilisation additionnelle estimée à $-1,2$ kcal/mol. Cette interaction non covalente résulte de la configuration électronique singulière de l'architecture polyénique de l'astaxanthine et du système aromatique de la phénylalanine. De telles interactions sont rarement observées dans les complexes protéine-ligand et pourraient expliquer la spécificité unique de l'astaxanthine pour NF- κ B par rapport à d'autres caroténoïdes (par exemple, le β -carotène ou la lutéine). L'alignement spatial requis pour ce recouvrement π - σ impose probablement des contraintes géométriques strictes favorisant la structure rigide et plane de l'astaxanthine au détriment d'analogues plus flexibles. Cette interaction, combinée à l'ancrage hydrophobe et aux liaisons hydrogène décrites précédemment, contribue à un mode de liaison qui bloque stériquement le domaine de liaison à l'ADN de NF- κ B. Des études expérimentales ont démontré que l'astaxanthine supprime la translocation nucléaire de NF- κ B ainsi que la production en aval de cytokines pro-inflammatoires (ex. TNF- α , IL-6) dans des modèles de stress oxydatif, ce qui est cohérent avec la prédiction *in silico* d'une forte affinité de liaison à la sous-unité p50/p65 (Barizi et al., 2024).

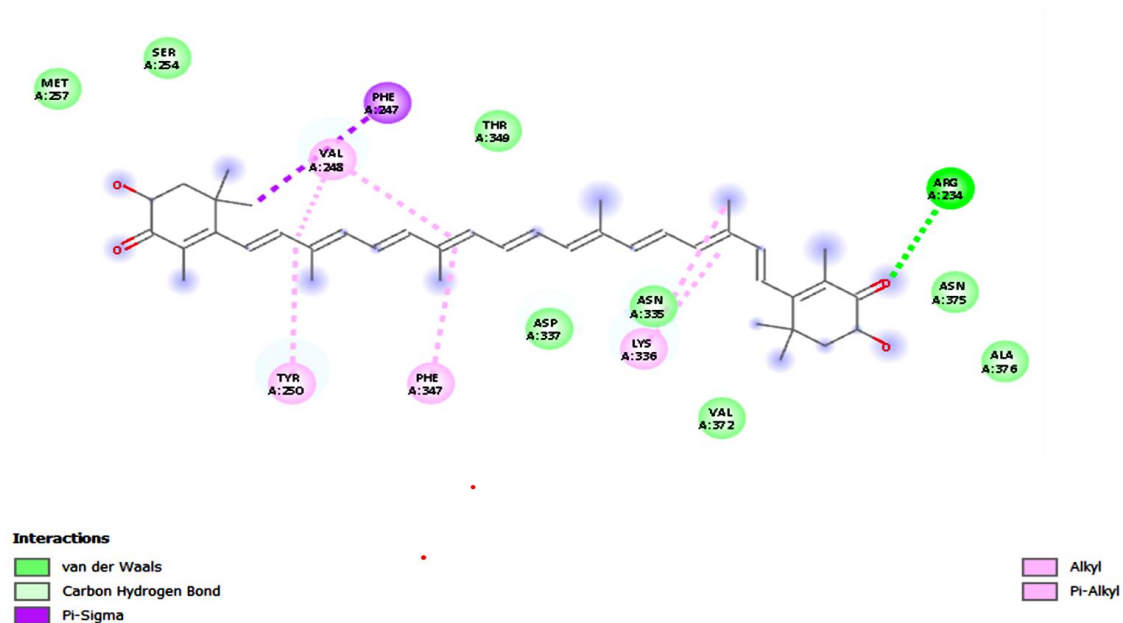


Figure 29 : Liaisons hydrogène entre l'astaxanthine et les résidus du site de liaison

- Inhibition de la COX-2 par l'astaxanthine

La cyclooxygénase-2 (COX-2) est une enzyme clé dans le processus inflammatoire. Elle transforme l'acide arachidonique en prostaglandines, qui sont des substances responsables de la douleur, de la fièvre et de l'inflammation. Contrairement à la COX-1, qui est présente de façon constante dans de nombreux tissus, la COX-2 est produite en réponse à des signaux inflammatoires, comme certaines molécules appelées cytokines. Cette production accrue dans les zones enflammées fait de la COX-2 une cible importante pour les médicaments qui cherchent à diminuer l'inflammation (Singh *et al.*, 2025).

Caractérisation des sites de liaison

L'inhibition de la COX-2 par l'astaxanthine a été caractérisée par l'identification de cinq sites potentiels d'interaction, dont les trois plus marquants sont résumés dans le [tableau 13](#). La poche C1 présente l'affinité de liaison la plus élevée (-10,4 kcal/mol), dépassant celle de l'inhibiteur de référence célécoxib (-9,1 kcal/mol) ([figure 30](#)). Son volume important (4893 Å³) permet d'accueillir la structure polyénique étendue de l'astaxanthine, similaire à son interaction avec la poche S1 de la stromélysine-1. Les résidus hydrophobes, notamment

la phénylalanine 154 (PHE154) et l'histidine 117 (HIS117), dominant l'interface de liaison, les cycles β -ionone étant stabilisés par des liaisons hydrogène.

Tableau 13 : Paramètres clés des poches de liaison identifiées

Site	Score (kcal/mol)	Volume (Å ³)	Résidus Clés	Types d'interactions
C1	-10,4	4893	PHE154, HIS117	Hydrophobe, Liaison hydrogène
C4	-9,4	736	PHE86, ALA87	Hydrophobe, π - σ
C2	-9,2	2451	PHE88, PRO110	Hydrophobe

La poche compacte C4 (736 Å³) engage l'astaxanthine via des interactions π - σ avec la phénylalanine 86 (PHE86), analogues à celles observées avec les résidus histidine 386 (HIS386) et asparagine 382 (ASN382) de la COX-2 humaine. La géométrie de ce site favorise les ligands rigides comme l'astaxanthine, plutôt que les analogues plus flexibles (par exemple, le β -carotène), ce qui explique la sélectivité de la molécule. La double fixation de l'astaxanthine aux sites C1 (site catalytique) et C4 (site allostérique) suggère un profil d'inhibition multi-mécanistique, comparable à celui du bisdéméthoxycurcumine ciblant à la fois NF- κ B et COX-2.

La large poche C1 pourrait permettre des effets anti-inflammatoires étendus en bloquant à la fois l'entrée du substrat (acide arachidonique) et la libération des prostaglandines, comme observé dans des modèles d'inflammation induite par la roténone. La conformation étendue de l'astaxanthine s'insère dans la fente catalytique de la COX-2, empêchant de manière stérique l'accès de l'acide arachidonique tout en stabilisant la conformation inactive de l'enzyme. Cette double action – inhibition compétitive au site C1 et modulation allostérique au site C4 – pourrait expliquer son efficacité supérieure par rapport aux anti-inflammatoires non stéroïdiens ciblant un seul site dans les modèles précliniques.

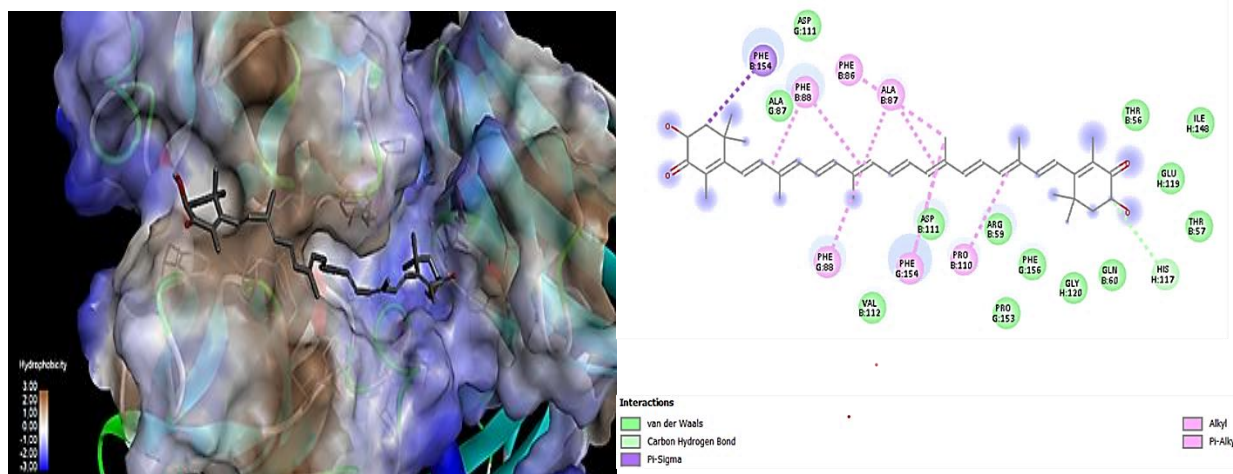


Figure 30 : Interactions tridimensionnelles au sein du site de liaison C1 de la COX-2.

Interactions moléculaires

Les interactions hydrophobes dominantes impliquent les résidus PHE154, PHE86 et PHE88, qui établissent un réseau hydrophobe avec la chaîne polyénique de l'astaxanthine. Les distances de 3,7 à 4,2 Å sont optimales pour les interactions de type van der Waals, contribuant à environ 62 % de l'énergie totale de liaison (−6,5 kcal/mol), soulignant ainsi leur rôle essentiel dans la stabilisation du complexe.

Le résidu d'histidine HIS117 forme une liaison hydrogène cruciale avec le groupe cétone terminal de l'astaxanthine. Cette liaison, caractérisée par une distance de 2,8 Å et un angle donneur-accepteur de 158° (proche de l'idéal à 180°), ancre l'extrémité polaire de l'astaxanthine et empêche son déplacement lors de l'activité catalytique. L'interaction unique de type π - σ entre l'alanine 87 (ALA87) et le cycle β -ionone de l'astaxanthine se traduit par un recouvrement partiel des orbitales à une distance de 4,3 Å, compatible avec une stabilisation non covalente. Rare dans les complexes protéine-ligand, cette interaction accroît la spécificité moléculaire et différencie l'astaxanthine d'autres caroténoïdes structurellement proches, comme le β -carotène.

Propriétés pharmacocinétiques de l'astaxanthine

Astaxanthine présente des propriétés pharmacocinétiques complexes. Son taux d'absorption intestinale mentionné dans le [tableau 14](#) semble optimiste par rapport aux

résultats publiés dans la littérature ([Brotsudarmo et al., 2020](#)). De nombreuses études indiquent une biodisponibilité nettement inférieure, des recherches montrant que seulement environ 10 % de l'astaxanthine ingérée par voie orale est réellement absorbée par l'organisme, tandis que 90 % passe dans le tractus intestinal. D'autres études situent la biodisponibilité orale entre 10 et 50 % en raison de la faible solubilité dans l'eau de l'astaxanthine et de son absorption limitée par les cellules épithéliales intestinales ([Yasuda et al., 2023](#) ; [Kuehu et al., 2024](#)).

Bien que le tableau indique une faible pénétration de la barrière hémato-encéphalique (BHE) (0.392), des recherches plus récentes suggèrent que l'astaxanthine peut en effet traverser la barrière hémato-encéphalique ([Khayyal et al. \(2024\)](#)). Cette capacité à atteindre les tissus cérébraux contribue à ses propriétés neuroprotectrices et à ses applications potentielles dans le domaine de la santé cognitive.

La désignation « Non » pour le métabolisme du CYP3A4 correspond aux conclusions selon lesquelles l'astaxanthine ne subit pas d'auto-induction du métabolisme via le CYP3A4 ou le CYP2B6. Cependant, des recherches montrent que l'astaxanthine est métabolisée en plusieurs composés, notamment le 3-hydroxy-4-oxo-bêta-ionol, le 3-hydroxy-4-oxo-bêta-ionone et leurs formes réduites ([Abdol Wahab et al., 2022](#)).

Par ailleurs, sa masse moléculaire élevée (596 g/mol) et son log P important (~9,7) impliquent une faible biodisponibilité orale, d'où le développement de formulations améliorées : nanoémulsions, liposomes, et systèmes basés sur les lipides. Ces stratégies permettent d'augmenter de manière significative la biodisponibilité, jusqu'à 3,7 fois comparé aux formulations standards ([Kistler et al., 2002](#) ; [Aribisala et al., 2021](#)). Après absorption, la concentration sanguine maximale est atteinte en environ 2 heures et la demi-vie d'élimination se situe autour de 16 heures. Ainsi, malgré ses effets biologiques prometteurs, le profil pharmacocinétique de l'astaxanthine impose le recours à des systèmes de délivrance optimisés pour une administration orale efficace ([Odeberg et al., 2003](#)).

Tableau 14 : Propriétés pharmacocinétiques de l'astaxanthine

Paramètre	Valeur	Interprétation
Absorption intestinale	74.6%	Limité par une lipophilie élevée
Perméabilité BHE	0.392	Faible pénétration dans le cerveau
Métabolisme CYP3A4	Non	Faible risque d'interactions

Spécificité moléculaire

L'analyse comparative avec d'autres inhibiteurs naturels ([tableau 15](#)) met en évidence les caractéristiques supérieures de liaison de l'astaxanthine ainsi que sa capacité à cibler simultanément deux sites. La structure moléculaire de l'astaxanthine, comprenant une longue chaîne polyénique conjuguée avec des cycles ionone terminaux, lui confère une configuration spatiale optimale pour interagir simultanément avec les sites de liaison de NF- κ B et de COX-2. Cette organisation unique favorise la formation de liaisons hydrogène cruciales et d'interactions hydrophobes avec des résidus clés dans les deux cibles. Grâce à sa spécificité exceptionnelle et son affinité de liaison élevée pour ces médiateurs inflammatoires, l'astaxanthine se positionne comme un candidat privilégié pour le développement de nouveaux agents anti-inflammatoires de prochaine génération, avec une efficacité accrue et des effets secondaires réduits en comparaison aux approches classiques ciblant un seul récepteur.

Tableau 15 : Comparaison de la spécificité moléculaire

Composé	Score NF- κ B (kcal/mol)	Score COX-2 (kcal/mol)	Profil de spécificité
Astaxanthine	-7,9	-10,4	Double ciblage
Curcumine	-6,8	-7,3	Modérée
Quercétine	-6,5	-8,1	Principalement ciblage unique

7. Effet de la supplémentation de l'astaxanthine sur la croissance du tilapia

7.1. Suivre de la croissance

L'astaxanthine, un caroténoïde doté de puissantes propriétés antioxydantes, suscite un intérêt croissant en aquaculture pour son potentiel en tant qu'ingrédient fonctionnel innovant. Cette étude s'attache à évaluer l'impact d'une supplémentation alimentaire en astaxanthine sur la croissance du tilapia, espèce majeure en pisciculture. Le protocole expérimental a consisté à comparer les effets de différents régimes, incluant une alimentation commerciale standard, une formule à base de sous-produits de crevettes, ainsi que deux alimentations enrichies en astaxanthine à des taux de 5 % et 10 %.

Au début de l'expérience (T0), la taille moyenne des tilapias était de 7.20 ± 0.06 cm et un poids de 5.05 ± 0.04 g. Après seulement deux semaines (T1), on a constaté une bonne évolution du poids et de la taille des poissons notamment ceux qui reçoivent un régime alimentaire enrichi en astaxanthine (5% et 10%) avec une taille de 8.91 ± 0.08 cm et 9.74 ± 0.16 cm et un poids de 12.46 ± 0.97 g et 14.21 ± 1.73 g, respectivement (figure 31).

L'effet de l'alimentation enrichie sur la croissance s'accroît au fil des semaines suivant le début de l'expérience, avec une amélioration nette de la croissance des tilapias soumis aux régimes A5 et A10, atteignant en fin d'expérimentation des poids moyens de 31.06 ± 1.83 g et 35.34 ± 1.12 g, ainsi que des tailles de 12.25 ± 0.13 cm et 12.73 ± 0.15 cm, respectivement. Les poissons nourris exclusivement avec de la farine issue des sous-produits de crevettes présentaient une taille et un poids légèrement inférieurs à ceux du groupe témoin, sans que cette différence ne soit statistiquement significative ($p \geq 0,05$).

Cette différence de croissance, bien que légère, peut s'expliquer par la composition nutritionnelle de la farine des sous-produits de crevettes, dont le contenu en protéines et lipides sont inférieurs à celui de l'alimentation de référence (33.05% et 3.47 % contre 43% et 8%, respectivement).

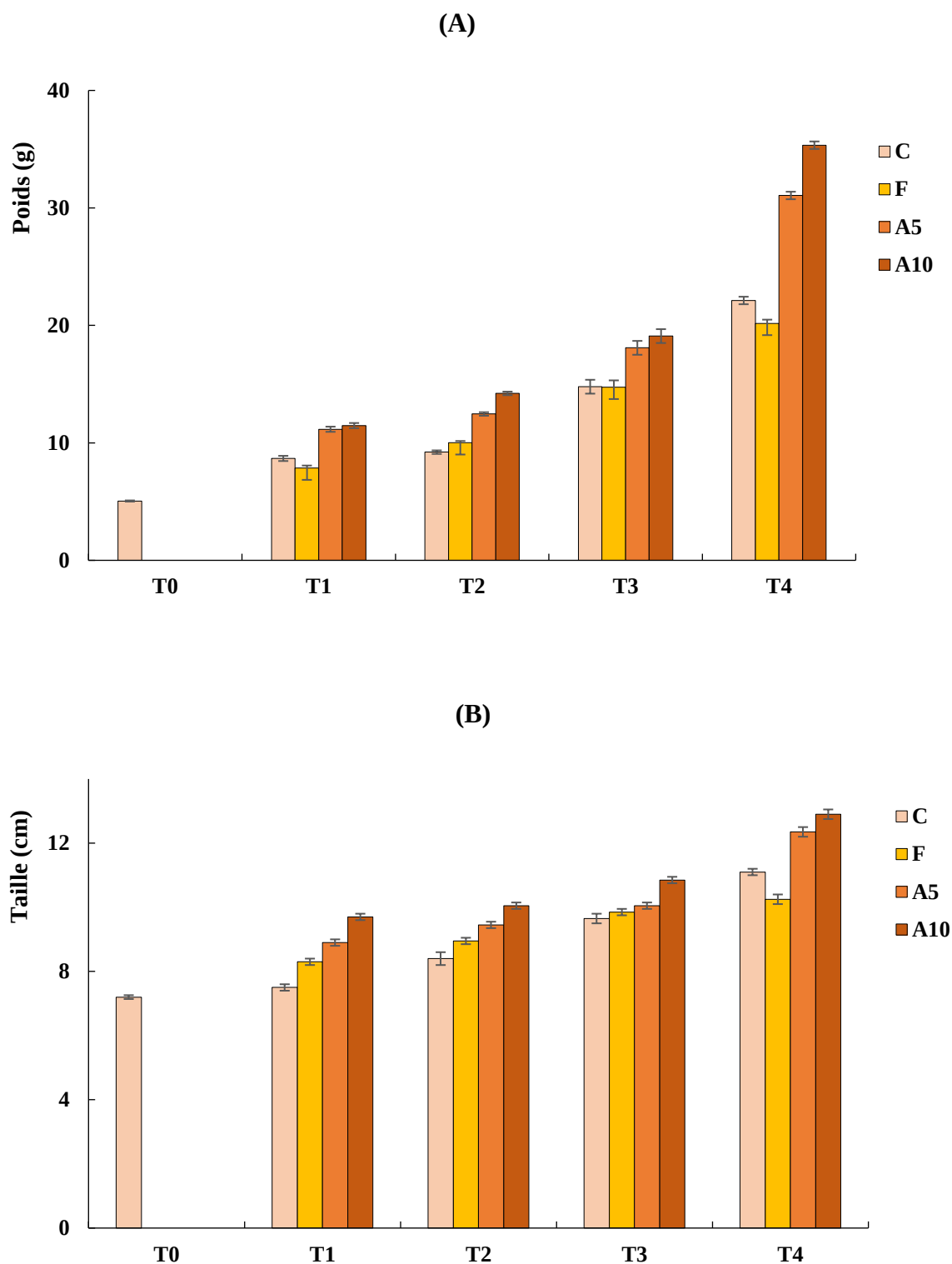


Figure 31 : Développement de la croissance des tilapias rouges sous différents régimes alimentaires, (A) : poids (g), (B) : taille (cm). C : Alimentation de référence, F : Farine des sous-produits de crevettes, A5 : 5% d'astaxanthine, A10 : 10% d'astaxanthine.

Harith *et al.* (2024) ont étudié la croissance du tilapia rouge sur une période de six semaines en utilisant une alimentation de référence supplémentée en astaxanthine à des concentrations de 4%, 8% et 12%. À l'issue de cette période, ils ont observé un gain moyen en poids de 10.8g avec un régime à 8% d'astaxanthine. Ces résultats sont néanmoins inférieurs à ceux obtenus dans notre recherche, où un gain de 14.04 g a été atteint en seulement trois semaines avec un apport de 10% d'astaxanthine, atteignant 30.29 g à la fin de l'expérience, contre seulement 17.12 g pour le groupe alimenté avec la ration de référence.

Les effets bénéfiques de la supplémentation en astaxanthine sur la croissance peuvent être attribués à ses multiples rôles physiologiques (Li *et al.*, 2025) : (1) L'ingestion d'astaxanthine améliore la morphologie intestinale (longueur des villosités, épaisseur musculaire) chez les animaux aquatiques, ce qui favorise une meilleure absorption des nutriments (Song *et al.*, 2023). Chez les espèces aquatiques, l'intestin constitue le principal organe chargé de la digestion et de l'absorption des aliments, sa fonction digestive est étroitement liée à son développement (Gao *et al.*, 2014 ; Li *et al.*, 2025).

Plusieurs études ont montré qu'une augmentation de la longueur des villosités intestinales élargit la surface intestinale, optimisant ainsi les fonctions digestives et d'absorption. Par ailleurs, l'épaisseur musculaire accrue est positivement corrélée à la capacité de péristaltisme intestinal. Cette optimisation structurelle contribue au transport et à l'absorption efficaces des nutriments (Adeshina *et al.*, 2019 ; Yu *et al.*, 2020). L'absorption d'astaxanthine accroît également la densité des cellules caliciformes dans l'intestin et le diverticule pylorique des poissons, renforçant ainsi la protection de la couche muqueuse contre les substances nocives (Shabanzadeh *et al.*, 2023).

(2) Les enzymes digestives (protéase, lipase et amylase) dégradent respectivement protéines, lipides et amidon en petites molécules absorbables. L'activité de ces enzymes conditionne directement ou indirectement l'état nutritionnel des animaux (Xie *et al.*, 2011). Les résultats montrent que l'ajout d'astaxanthine dans l'alimentation augmente significativement les activités de la lipase ($g = 10.49$), de la protéase ($g = 4.89$) et de l'amylase ($g = 5.73$) chez les animaux d'aquaculture (Wang *et al.*, 2019 ; Zhu *et al.*, 2022 ; Qin *et al.*, 2024).

(3) Certaines synthèses biochimiques chez les animaux, telles que celles du cholestérol, des acides aminés et des acides nucléiques, nécessitent le pouvoir réducteur fourni par le NADPH (Moreno-Sánchez et al., 2018). L'astaxanthine, dotée d'une activité antioxydante exceptionnelle, inhibe l'activité de la NADPH réductase, augmentant ainsi le taux de NADPH, ce qui favorise la biosynthèse des protéines, lipides et glucides (Ohno et al., 2011). De plus, grâce à ses propriétés antioxydantes puissantes, l'astaxanthine régule l'équilibre microbien en maintenant un environnement intestinal réducteur. Ce mécanisme inhibe sélectivement la prolifération des bactéries aérobies et diminue la production d'enzymes digestives exogènes, tout en activant l'expression génique du système enzymatique digestif de l'hôte, assurant une régulation bidirectionnelle de la digestion et du métabolisme (Song et al., 2023 ; Li et al., 2025).

(4) Enfin, des études ont montré que l'astaxanthine active le récepteur- α activé par le proliférateur de peroxysomes (PPAR α), entraînant une forte répression de l'expression de l'ARNm du récepteur- γ (PPAR γ), principal facteur de transcription adipogénique. Ce mécanisme réduit efficacement l'accumulation hépatique de lipides, comme démontré chez la souris. Dans le cadre de l'aquaculture, l'ajout d'astaxanthine au régime alimentaire diminue significativement la teneur en graisse corporelle de la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) et du pagre (*Pagrus pagrus*). Cet effet résulte probablement de la capacité de l'astaxanthine à améliorer le métabolisme lipidique, tout en exerçant une fonction d'économie protéique, libérant ainsi davantage d'énergie pour la croissance des animaux aquatiques (Jia et al., 2016 ; Kobori et al., 2017 ; Li et al., 2025).

7.2. Effet de l'astaxanthine sur la pigmentation du tilapia rouge

Le tilapia rouge (*Oreochromis* sp.) constitue l'une des espèces d'eau douce les plus appréciées en aquaculture. La coloration joue un rôle crucial dans les préférences des consommateurs, influençant fortement la demande (Mohd Faudzi et al., 2022). L'aspect visuel, notamment la coloration, représente un critère déterminant dans l'évaluation de la qualité et peut impacter le prix commercial des poissons. Des facteurs tels qu'une mauvaise gestion, un stress important ou une carence en caroténoïdes naturels sont souvent liés à une décoloration corporelle chez les poissons (Mohd Faudzi et al., 2022). En revanche, une pigmentation vive est généralement associée à l'attente de produits alimentaires de qualité supérieure (Amiruddin et al., 2021).

Dans le domaine de l'aquaculture, l'ajout de caroténoïdes dans l'alimentation des poissons constitue une technique efficace, simple et peu intrusive pour améliorer leur pigmentation. Deux principales catégories de ces pigments sont utilisées : ceux synthétisés chimiquement, et ceux d'origine naturelle. Si les caroténoïdes synthétiques sont généralement moins complexes à incorporer, leur coût reste élevé ce qui limite leur utilisation (Natália et Sandra, 2016).

Au début de l'expérience, les poissons juvéniles âgés de trois mois présentaient une faible teneur en caroténoïdes, estimée à $7.09 \pm 0.13 \mu\text{g/g}$ (figure 32). Après seulement deux semaines, une augmentation significative ($p \leq 0,05$) a été observée dans tous les groupes, avec les meilleures valeurs obtenues pour les régimes A10 ($156.01 \pm 7.72 \mu\text{g/g}$), A5 ($123.03 \pm 5.91 \mu\text{g/g}$) et F ($95.02 \pm 3.21 \mu\text{g/g}$), tandis que les poissons nourris avec un régime de référence ne présentaient que $20.10 \pm 1.52 \mu\text{g/g}$.

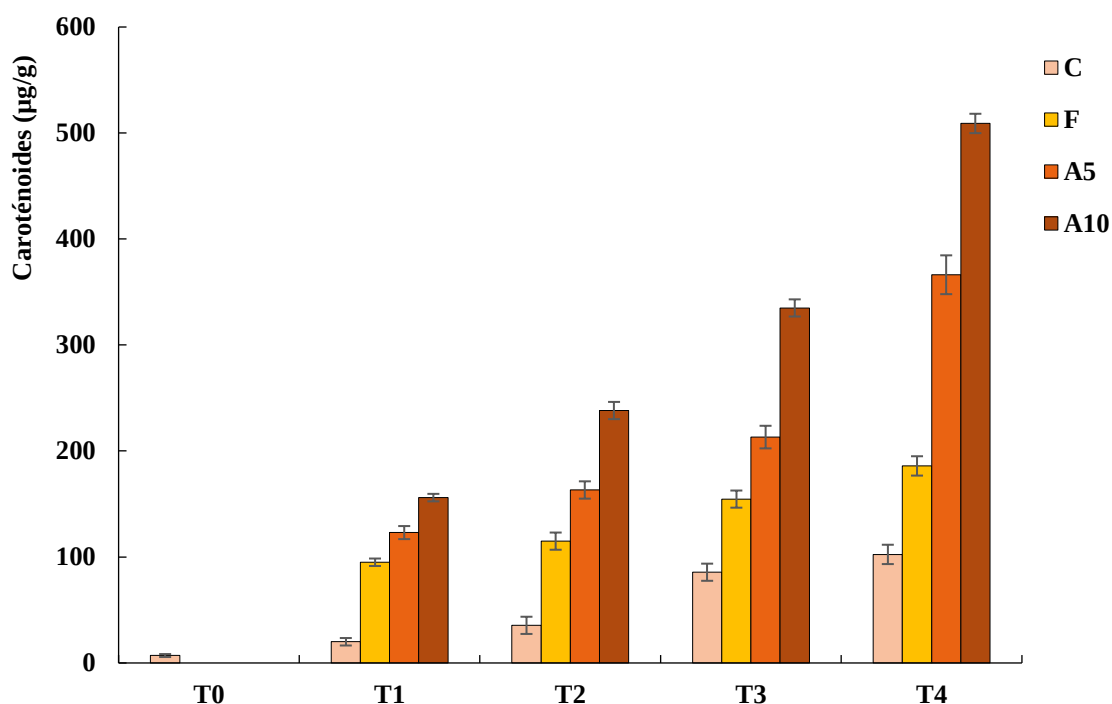


Figure 32 : Effet des différents régimes alimentaires sur les caroténoïdes totaux des tilapias rouges. C : Alimentation de référence, F : Farine des sous-produits de crevettes, A5 : 5% d'astaxanthine, A10 : 10% d'astaxanthine.

La teneur en caroténoïdes totaux dans la chair des poissons nourris avec les différents régimes a continué à augmenter durant les semaines qui ont suivi. À la fin des huit semaines d'expérience, la teneur en caroténoïdes dans le groupe témoin avait atteint 102.41 ± 8.27 $\mu\text{g/g}$, alors que l'utilisation de farine issue des sous-produits de crevettes a permis d'atteindre 195.96 ± 11.52 $\mu\text{g/g}$. Par ailleurs, l'enrichissement de l'alimentation de référence par l'ajout d'astaxanthine a amélioré ce taux de 3.58 fois par rapport au témoin seul.

Enfin, le régime alimentaire contenant 10% d'astaxanthine a produit la plus forte pigmentation, avec 509.34 ± 12.76 $\mu\text{g/g}$ de caroténoïdes, soit près de cinq fois la concentration mesurée dans le groupe contrôle. Cette amélioration remarquable illustre clairement l'efficacité des régimes enrichis dans l'optimisation de la pigmentation du tilapia.

L'évaluation visuelle de la pigmentation cutanée des tilapias rouges (figure 33) met en évidence des différences nettes entre les traitements alimentaires. Les poissons nourris avec le régime C (alimentation standard) présentent la coloration rouge la moins intense. En revanche, les individus alimentés avec le régime F, formulé à base de farine de sous-produits de crevettes (contenant naturellement de l'astaxanthine), montrent une amélioration visible de la pigmentation.

Cette intensification de la couleur est encore plus marquée chez les poissons recevant des régimes enrichis en astaxanthine. Le niveau de pigmentation le plus élevé est observé chez les poissons du lot A10 (10 % d'astaxanthine), caractérisés par une coloration rouge intense et uniforme sur l'ensemble du corps. La coloration plus intense observée avec le régime A10 par rapport à A5 met en évidence un effet dose-dépendant de l'astaxanthine sur la pigmentation cutanée.

L'amélioration de la pigmentation observée chez les tilapias rouges nourris avec des régimes enrichis en astaxanthine s'explique par l'accumulation de ce caroténoïde dans la peau, au niveau des chromatophores, notamment les xanthophores et érythrophores. L'augmentation de l'apport alimentaire en astaxanthine favorise son transport, son stockage dans la peau et l'intensification des couleurs rouges et orangées (Vissio *et al.*, 2021 ; Zhang *et al.*, 2023).

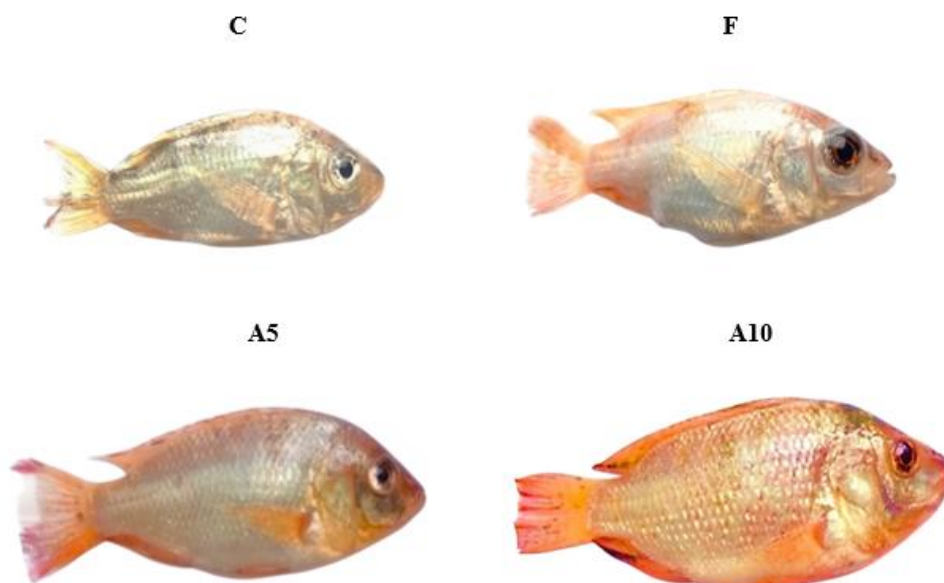


Figure 33 : Effet des différents régimes alimentaires sur la coloration des tilapias après 2 mois d'élevage. C : Alimentation de référence, F : Farine des sous-produits de crevettes, A5 : 5% d'astaxanthine, A10 : 10% d'astaxanthine.

Selon [Weeratunge et Perera \(2016\)](#), l'alimentation des poissons avec des rations enrichies en extrait d'astaxanthine a permis d'améliorer la coloration de leur peau en seulement 20 jours, comparativement à une alimentation à base de poudre de déchets de crevettes brutes. Une supplémentation en astaxanthine a amélioré de manière significative la teneur en caroténoïdes totaux ainsi que la pigmentation des poissons disques (*Symphysodon spp.*).

[Harith et al. \(2024\)](#) ont évalué l'impact de l'enrichissement de l'aliment commercial avec de l'astaxanthine extraite de *Haematococcus pluvialis* chez le tilapia rouge sur une période de 6 semaines. Quatre régimes ont été testés : 0 % (T1), 4 % (T2), 8 % (T3) et 12 % (T4). Les résultats ont montré que toutes les diètes enrichies en astaxanthine ont induit une augmentation significative de la couleur rouge de la peau par rapport au témoin sans astaxanthine. Les caroténoïdes alimentaires, une fois absorbés au niveau intestinal, sont transportés par les lipoprotéines et s'accumulent dans les chromatophores cutanés, ce qui explique l'élévation des teneurs en caroténoïdes totaux mesurées chez les poissons recevant les régimes enrichis par rapport au témoin.

Ces résultats sont cohérents avec ceux présentés par [Rahman et al. \(2016\)](#) indiquant que les concentrations d'astaxanthine dans les muscles de la truite arc-en-ciel ont augmenté de façon linéaire avec l'augmentation de l'inclusion d'astaxanthine dans l'alimentation, et que l'absorption de ces caroténoïdes est influencée par la nature et la concentration des caroténoïdes utilisés dans l'alimentation, la taille du poisson ou l'état physiologique et le stade de maturation sexuelle

7.3. Développement de la composition nutritionnelle

7.3.1. Teneur en matière sèche et en cendres

Les résultats présentés dans la [figure 34](#) montrent une augmentation globale de la matière sèche des tilapias au cours des deux mois d'élevage, quel que soit le régime alimentaire, traduisant une accumulation progressive de la biomasse organique liée à la croissance. Le lot témoin (C) présente une évolution modérée de la matière sèche, passant de $17.82 \pm 0.14\%$ au début de l'expérience à une valeur de $25.37 \pm 0.12 \%$ à T4, ce qui reflète un développement physiologique standard.

Le régime F induit une augmentation comparable, bien que légèrement inférieure à celle du témoin à T3 et T4, suggérant une efficacité nutritionnelle intermédiaire. En revanche, les régimes enrichis en astaxanthine (A5 et A10) se distinguent par des valeurs plus élevées de matière sèche dès T1, avec une progression continue jusqu'à T4. Le régime A10 présente systématiquement les valeurs les plus élevées ($p \leq 0,05$), atteignant $29.35 \pm 0.17\%$ à T4, indiquant une réponse dépendante de la dose d'astaxanthine. Cette augmentation de la matière sèche traduit une intensification du dépôt des fractions protéiques et lipidiques de la biomasse, associée à une meilleure assimilation et valorisation des nutriments. Ainsi, l'enrichissement en astaxanthine apparaît favorable au développement de la matière sèche et à l'amélioration de la composition corporelle des tilapias.

La teneur en cendres ([figure 35](#)), indicateur de la fraction minérale totale de la biomasse, montre des variations notables au cours de l'élevage en fonction du régime alimentaire. Chez le lot témoin (C), les valeurs restent globalement stables autour de 3.25–3.66%, traduisant un équilibre minéral compatible avec une croissance physiologique normale et une alimentation de référence adéquate.

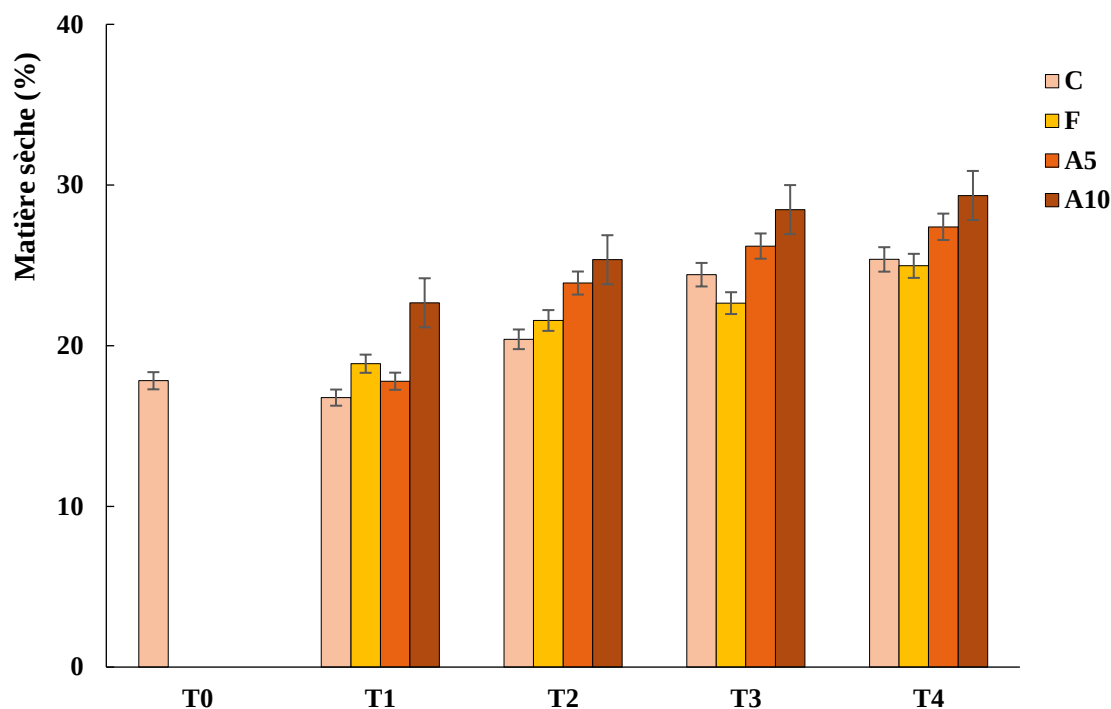


Figure 34 : Teneur en matière sèche des tilapias sous différent régimes alimentaires. C : Alimentation de référence, F : Farine des sous-produits de crevettes, A5 : 5% d’astaxanthine, A10 : 10% d’astaxanthine.

Le régime F, à base de farine de sous-produits de crevettes, présente systématiquement les teneurs en cendres les plus élevées ($p < 0.05$) à tous les temps d’échantillonnage, atteignant $4.36 \pm 0.07\%$ à T4. Cette augmentation est cohérente avec la richesse intrinsèque des sous-produits de crevettes en minéraux (notamment calcium, phosphore et oligo-éléments), ainsi qu’avec la présence de chitine et de résidus exosquelettiques, connus pour accroître la fraction minérale corporelle des poissons (Brasileiro et al., 2012). Il a été rapporté par Septinova et al. (2010) que les déchets de crevettes se caractérisent par une fraction minérale élevée, avec une teneur en cendres atteignant 19.67 %.

Les régimes enrichis en astaxanthine (A5 et A10) induisent des teneurs en cendres systématiquement supérieures à celles observées avec l’alimentation standard ($p < 0.05$), indiquant une amélioration du contenu minéral corporel des tilapias. Cette augmentation suggère que l’astaxanthine favorise indirectement l’assimilation et la rétention des minéraux, probablement en améliorant l’état physiologique général, l’intégrité cellulaire et l’efficacité métabolique (Besharat et al., 2021). Toutefois, les valeurs de teneur en cendres observées

dans les lots A5 et A10 demeurent inférieures à celles du régime F, à base de sous-produits de crevettes.

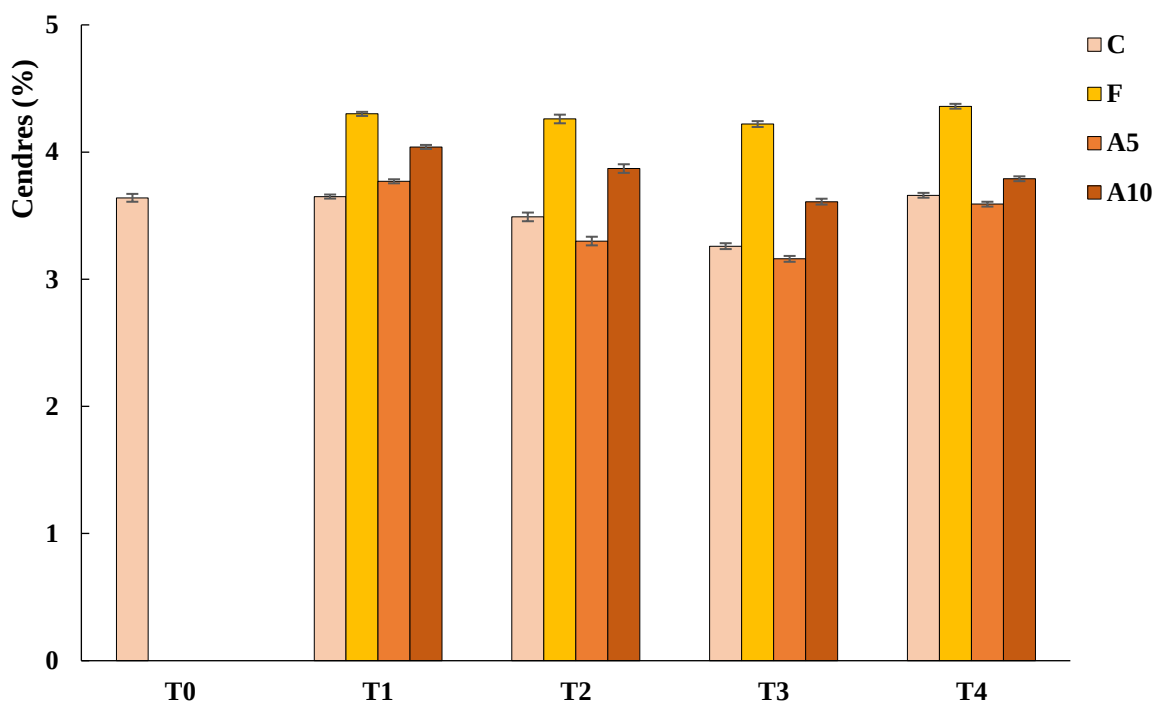


Figure 35 : Teneur en cendres des tilapias sous différent régimes alimentaires. C : Alimentation de référence, F : Farine des sous-produits de crevettes, A5 : 5% d’astaxanthine, A10 : 10% d’astaxanthine.

Les teneurs en matière sèche et en cendres observées dans la présente étude apparaissent globalement plus élevées que celles rapportées dans plusieurs travaux antérieurs portant sur le tilapia. En effet, [Olopade et al. \(2016\)](#) ont montré que la matière sèche du tilapia hybride se situait entre 19.83 et 19.99 %, tandis que la teneur en cendres variait de 1.24 à 1.30 %, des valeurs inférieures à celles mesurées dans les différents régimes expérimentaux de la présente étude. Ces différences peuvent être attribuées à des variations dans la formulation des régimes alimentaires, la qualité des ingrédients utilisés, ainsi que les conditions d’élevage et la durée de l’expérimentation.

Par ailleurs, [Talab et al. \(2016\)](#) ont rapporté, chez trois espèces de tilapia, des teneurs en matière sèche comprises entre 21.44 et 24 %, accompagnées de teneurs en cendres relativement faibles, allant de 0.43 à 0.73 %. Bien que certaines valeurs de matière sèche

soient comparables à celles obtenues dans la présente étude, les teneurs en cendres restent inférieures, ce qui suggère une moindre accumulation de la fraction minérale corporelle.

De même, [Islam et al. \(2021\)](#) ont indiqué que la matière sèche du tilapia variait de 18.64 à 20.88 %, avec des teneurs en cendres comprises entre 0.31 et 0.53 %, confirmant que les valeurs rapportées dans la littérature sont généralement plus faibles que celles observées dans les régimes enrichis testés ici. Ces écarts peuvent s'expliquer par l'effet combiné du régime alimentaire, du stade physiologique des poissons et de l'efficacité de l'assimilation des nutriments.

7.3.2. Teneur en protéines

La composition nutritionnelle du poisson, notamment en protéines, éléments minéraux, acides aminés et acides gras, constitue un critère déterminant de sa valeur pour la consommation humaine ([Mohanty et al., 2019](#) ; [Zhang et al., 2020](#)). Les protéines de poisson se distinguent par leur haute qualité biologique, en raison de leur richesse en acides aminés essentiels tels que la lysine, la méthionine et la taurine, souvent limitants dans d'autres sources de protéines animales. Par ailleurs, le muscle de poisson contient des acides aminés non essentiels, notamment la glycine, l'alanine, l'acide aspartique et l'acide glutamique, qui jouent un rôle clé dans le développement des propriétés organoleptiques, en particulier la saveur et le goût ([Doğan et Ertan, 2017](#) ; [Man et al., 2019](#) ; [Kim, 2020](#)).

En outre, les protéines musculaires du poisson contribuent de manière significative aux processus physiologiques de réparation tissulaire, de croissance et de maintien de la masse musculaire, ce qui renforce leur intérêt nutritionnel ([Oluwaniyi et al., 2010](#) ; [Venkatesan et al., 2017](#)).

Les résultats, présentés dans la [figure 36](#), montrent une augmentation progressive de la teneur en protéines chez les tilapias pour l'ensemble des régimes alimentaires au cours de la période d'élevage, traduisant une accumulation graduelle de la fraction protéique de la biomasse en lien avec la croissance. Le lot témoin (C) présente une augmentation régulière de la teneur en protéines, passant de $7.6 \pm 0.15\%$ à T0 à $22.25 \pm 0.28\%$ à T4, ce qui reflète

une croissance physiologique normale sous une alimentation de référence couvrant les besoins protéiques de base.

Le régime F, à base de farine de sous-produits de crevettes, montre une augmentation plus modérée de la teneur en protéines, avec des valeurs nettement inférieures à celles du témoin à partir de T2. Cette tendance suggère que, malgré une richesse minérale élevée, ce régime pourrait présenter une disponibilité protéique ou un équilibre en acides aminés moins favorable à l'accumulation des protéines corporelles.

En revanche, les régimes enrichis en astaxanthine (A5 et A10) se distinguent par une augmentation marquée et continue de la teneur en protéines tout au long de l'expérimentation. Dès T1, les valeurs observées dans ces lots sont supérieures à celles des régimes C et F, et cet écart s'accroît avec le temps. Le régime A10 présente systématiquement les teneurs protéiques les plus élevées, atteignant $39.71 \pm 1.06\%$ à T4, ce qui indique une réponse dépendante de la dose d'astaxanthine.

Cette amélioration de la teneur en protéines suggère que l'astaxanthine agit comme un additif fonctionnel favorisant l'efficacité de l'utilisation des protéines alimentaires et la synthèse protéique musculaire (Peng *et al.*, 2025). Son rôle antioxydant est susceptible de réduire le stress oxydatif et la dégradation protéique, contribuant ainsi à une meilleure rétention des protéines dans les tissus (Xu *et al.*, 2022 ; Peng *et al.*, 2025).

Kawamura *et al.* (2020) ont étudié l'effet de plusieurs antioxydants sur la synthèse des protéines et la masse musculaire lors de la phase de récupération suivant une période de réduction de l'activité musculaire. Leurs résultats ont montré que l'astaxanthine, le β -carotène et le resvératrol stimulent les voies de signalisation impliquées dans la synthèse protéique, conduisant à une augmentation de la masse musculaire. Ces observations suggèrent que les antioxydants peuvent favoriser la reconstruction et le développement du tissu musculaire après une phase de perte musculaire.

Globalement, ces résultats indiquent que l'enrichissement en astaxanthine améliore significativement la qualité nutritionnelle et la composition protéique des tilapias par rapport à l'alimentation standard et au régime à base de sous-produits de crevettes.

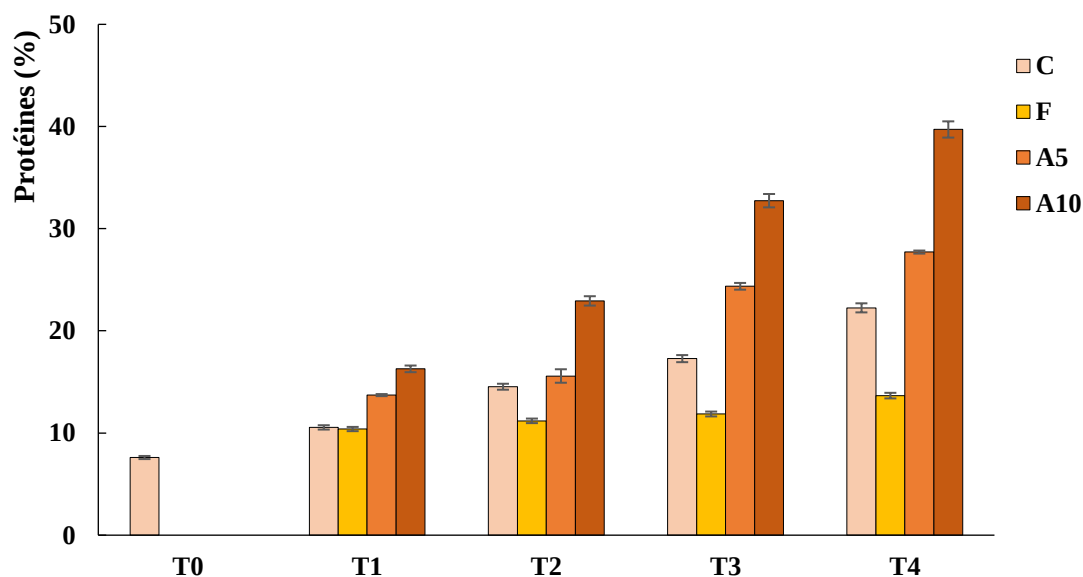


Figure 36 : Teneur en protéines des tilapias sous différents régimes alimentaires. C : Alimentation de référence, F : Farine des sous-produits de crevettes, A5 : 5% d'astaxanthine, A10 : 10% d'astaxanthine.

7.3.3. La teneur en lipides

La [figure 37](#) illustre l'évolution de la teneur en lipides des tilapias au cours de deux mois d'expérimentation, chez les poissons nourris avec le régime standard (témoin), le régime à base de farine de crevettes, ainsi que les régimes enrichis en astaxanthine à des taux de 5 % et 10 %.

À la fin de la période d'élevage (T4), des différences nettes apparaissent entre les régimes alimentaires quant à la teneur en lipides des tilapias. Le régime de référence (C) présente la valeur la plus élevée ($8.22 \pm 0.28\%$), traduisant un stockage lipidique important en fin de croissance. En revanche, le régime F, à base de farine de sous-produits de crevettes, conduit à une teneur en lipides nettement plus faible ($5.25 \pm 0.18\%$ à T4), en accord avec les résultats de la composition chimique globale indiquant un contenu lipidique d'environ 3.47 %, contre près de 8 % pour le régime de référence. Cette faible accumulation lipidique suggère que le régime F limite le dépôt des lipides corporels, probablement en raison de sa composition intrinsèquement pauvre en lipides et riche en fractions minérales et protéiques.

Les régimes enrichis en astaxanthine montrent des valeurs intermédiaires à T4, avec $7.62 \pm 0.08\%$ pour A5 et $6.77 \pm 0.13\%$ pour A10. Ces résultats indiquent que l'astaxanthine

modifie le métabolisme lipidique par rapport à l'alimentation standard, en limitant partiellement le stockage des lipides corporels, tout en restant moins restrictive que le régime F. La teneur plus élevée observée avec A5 par rapport à A10 suggère par ailleurs un effet dose-dépendant.

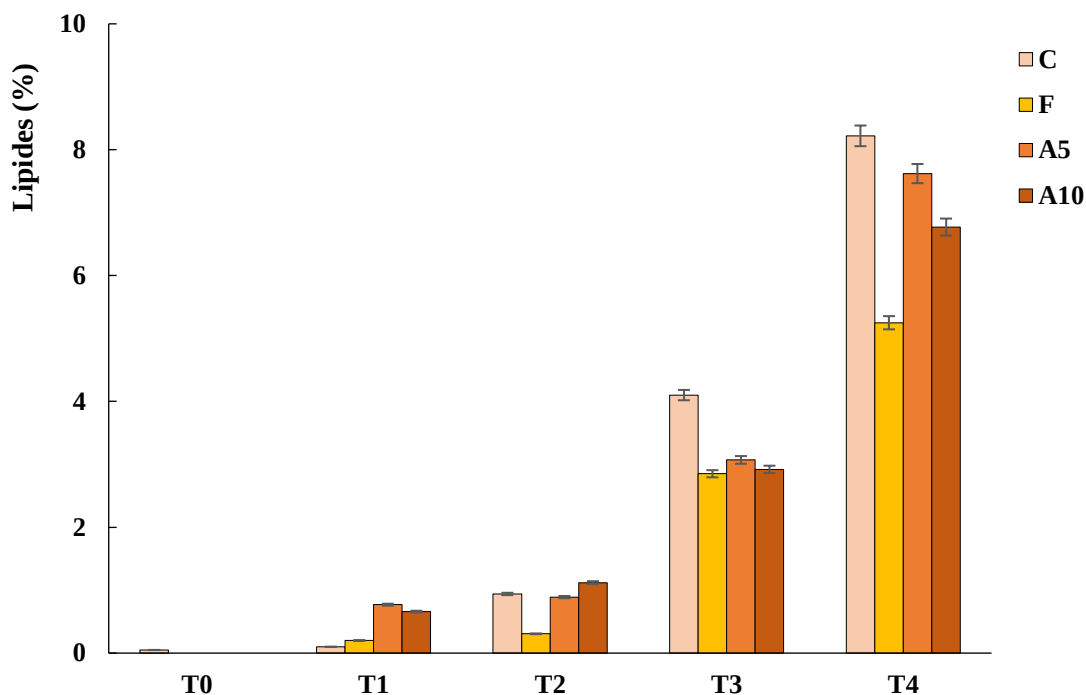


Figure 37 : Teneur en lipides des tilapias sous différents régimes alimentaires. C : Alimentation de référence, F : Farine des sous-produits de crevettes, A5 : 5% d'astaxanthine, A10 : 10% d'astaxanthine.

Des résultats similaires à ceux obtenus dans la présente étude ont été rapportés par [Besharat et al. \(2021\)](#), qui ont évalué l'effet de la supplémentation en astaxanthine sur la croissance et la composition corporelle de *Oncorhynchus mykiss*. Les auteurs ont observé une diminution significative de la teneur en lipides chez les poissons recevant des régimes enrichis en astaxanthine à des doses comprises entre 25 et 75 mg/kg, avec des valeurs variant de $1.66 \pm 0.18 \%$ à $1.20 \pm 0.20 \%$, comparativement au régime standard ($2.34 \pm 0.10 \%$). Ces résultats confirment l'effet modulateur de l'astaxanthine sur le métabolisme lipidique.

Des observations concordantes ont également été rapportées par [Han et al. \(2018\)](#), qui ont étudié l'influence de différents niveaux alimentaires d'astaxanthine sur la croissance, la capacité antioxydante et le métabolisme lipidique chez les juvéniles de *Portunus*

trituberculatus. Leur étude a montré une réduction marquée de la teneur en lipides, atteignant 23.8 g/kg chez les organismes recevant un régime enrichi en astaxanthine, contre 34.7 g/kg chez ceux nourris avec l'alimentation standard. Cette diminution a été associée à une amélioration de l'état physiologique et des capacités métaboliques des organismes étudiés.

Par ailleurs, des mécanismes cellulaires soutenant ces observations ont été mis en évidence par Tsai *et al.* (2020) à travers des travaux menés sur des adipocytes 3T3-L1. Les auteurs ont démontré que l'astaxanthine est capable d'inhiber la lipogenèse et le stockage lipidique, en réduisant les triglycérides intracellulaires, l'accumulation lipidique révélée par la coloration OROSM, ainsi que l'activité de la glycéro-3-phosphate déshydrogénase (GPDH). Cette inhibition est médiée par une répression de l'expression génique des principaux régulateurs de la lipogenèse (PPAR γ , FAS et ACC) et du transport des acides gras (aP2, CD36 et LPL).

7.3.4. Teneur en glucides

La teneur en sucres des poissons constitue un indicateur global de l'état du métabolisme glucidique, intégrant à la fois les processus d'absorption, de distribution et de stockage des glucides dans l'ensemble des tissus. L'analyse de ce paramètre permet ainsi d'évaluer l'influence des régimes alimentaires sur l'équilibre énergétique global du tilapia au cours de l'élevage.

Les résultats (figure 38) montrent une augmentation progressive de la teneur en glucides totaux des tilapias au cours de la période d'élevage, indépendamment du régime alimentaire, traduisant une adaptation du métabolisme énergétique en relation avec la croissance. Le lot témoin (C) présente une augmentation modérée des glucides, atteignant $1.67 \pm 0.04\%$ à T4, ce qui reflète un équilibre glucidique compatible avec une alimentation standard et une croissance physiologique normale.

Le régime F, à base de farine de sous-produits de crevettes, se distingue par une particularité importante : bien que la caractérisation de cette farine indique une teneur élevée en glucides ($34.37 \pm 0.05\%$), les glucides totaux mesurés dans le poisson entier demeurent relativement modérés, avec une valeur de $1.86 \pm 0.02\%$ à T4, légèrement supérieure à celle du témoin. Cette observation suggère que les glucides apportés par ce régime sont majoritairement utilisés comme source énergétique immédiate ou orientés vers d'autres

voies métaboliques, plutôt que stockés durablement dans les tissus. Ce comportement est cohérent avec la physiologie des poissons, dont la capacité d'utilisation et de stockage des glucides, principalement sous forme de glycogène, reste limitée, même en présence d'un apport alimentaire élevé (Hemre *et al.*, 2002 ; Polakof *et al.*, 2012 ; Zheng *et al.*, 2023).

En revanche, les régimes enrichis en astaxanthine (A5 et A10) présentent des teneurs en glucides totaux plus élevées à la fin de l'élevage, atteignant respectivement $2.31 \pm 0.01\%$ et $2.56 \pm 0.04\%$ à T4. Cette augmentation, plus marquée que celle observée pour les régimes C et F, suggère un effet modulateur de l'astaxanthine sur le métabolisme glucidique, favorisant une meilleure gestion et une accumulation relative des glucides corporels (Kalinowski *et al.*, 2023 ; Li *et al.*, 2025).

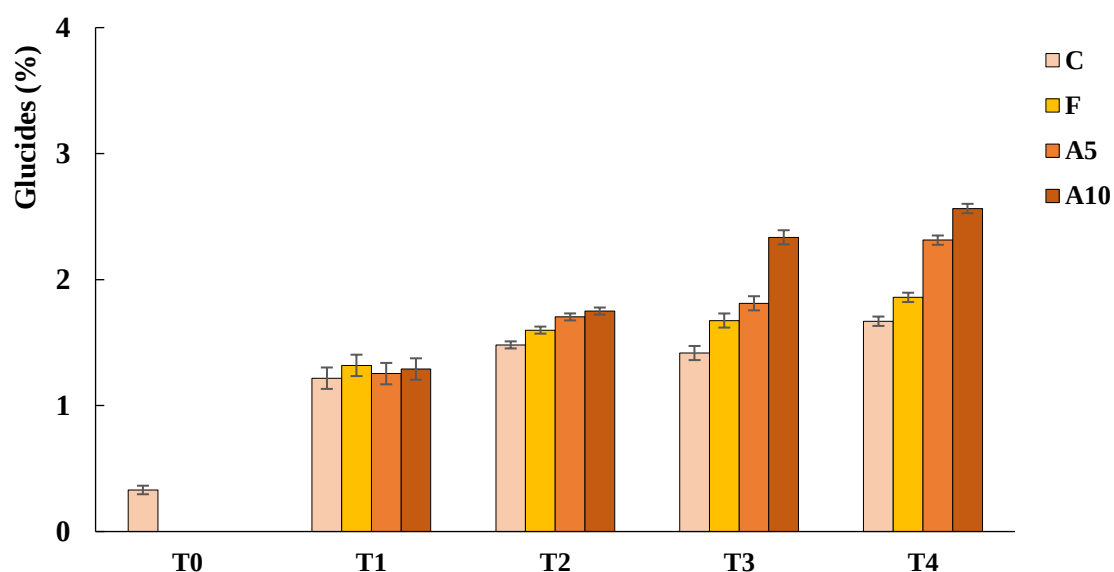


Figure 38 : teneurs en glucides des tilapias sous différents régimes alimentaires. C : Alimentation de référence, F : Farine des sous-produits de crevettes, A5 : 5% d'astaxanthine, A10 : 10% d'astaxanthine.

Conclusion

Conclusion

Les coproduits de la crevette, notamment la tête, la carapace et la queue, constituent une source précieuse de composés à forte valeur ajoutée, tels que les protéines, la chitine, les acides gras insaturés et les caroténoïdes, en particulier l'astaxanthine (3,3'-dihydroxy- β,β -carotène-4,4'-dione). Cette xanthophylle naturelle, abondante dans le milieu marin, est responsable de la coloration rose-rouge de nombreuses espèces aquatiques, notamment les crevettes, les salmonidés et les langoustes. En raison de ses propriétés biologiques remarquables, l'astaxanthine est aujourd'hui largement exploitée dans les domaines agroalimentaire, nutraceutique, pharmaceutique et cosmétique.

L'objectif principal de cette étude était de développer des méthodes d'extraction de l'astaxanthine à partir des sous-produits de la crevette rouge *Aristeus antennatus*, d'évaluer ses activités biologiques (antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes), puis d'étudier son potentiel en tant qu'ingrédient fonctionnel dans l'alimentation du tilapia rouge (*Oreochromis* sp.).

Les analyses biochimiques réalisées sur la farine issue des sous-produits de la crevette rouge ont révélé une composition nutritionnelle particulièrement intéressante, caractérisée par une forte teneur en protéines ($33.05 \pm 1.87\%$) et une proportion élevée d'acides gras polyinsaturés (32.72%). L'analyse des éléments traces par spectroscopie d'absorption atomique a permis d'identifier et de quantifier le cuivre, le fer, le cadmium, le zinc et le plomb, avec une prédominance du fer ($8.6342 \pm 0.2836 \mu\text{g/g}$), confirmant le potentiel nutritionnel de cette matière première pour des applications de valorisation.

Au cours de ce travail, deux méthodes d'extraction vertes ont été développées et optimisées, permettant d'obtenir des rendements satisfaisants en astaxanthine. L'utilisation de l'acétone comme solvant organique, avec un rapport solide-liquide de 1:20 à 30 °C pendant une heure, a conduit au rendement le plus élevé en caroténoïdes totaux, notamment pour les échantillons collectés durant la saison automnale ($1355.36 \pm 22.71 \mu\text{g/g}$). L'astaxanthine extraite a été identifiée et quantifiée avec précision à l'aide de la méthode analytique HPLC-DAD-APCI-MS, all-trans astaxanthine est le principal constituant ($499.49 \pm 4.71 \mu\text{g/g}$).

Les tests biologiques ont confirmé que l'astaxanthine présente des activités antioxydantes et anti-inflammatoires significatives, avec une activité antimicrobienne modérée. Elle a démontré une forte capacité à neutraliser l'oxygène singulet et à piéger les radicaux libres, avec une efficacité antioxydante largement supérieure à celle de la vitamine C (dans le test de DPPH, EC_{50} était $25.42 \pm 1.43 \mu\text{g/mL}$ et $87.25 \pm 3.15 \mu\text{g/mL}$, respectivement). De plus, l'astaxanthine a montré un effet protecteur contre la dénaturation thermique des protéines, une activité anti-hémolytique notable par la protection des globules rouges contre l'oxydation, ainsi qu'une activité antimicrobienne plus marquée vis-à-vis des bactéries Gram-positives que des bactéries Gram-négatives.

Sur le plan zootechnique, quatre régimes alimentaires ont été évalués pendant deux mois chez le tilapia rouge : un régime témoin, un régime à base de farine de sous-produits de crevettes, et deux régimes enrichis en astaxanthine à 5 % et 10 %. Les résultats ont montré que la supplémentation en astaxanthine, en particulier à 10 %, a significativement amélioré la croissance des poissons, avec un poids moyen de $35.34 \text{ g} \pm 1.12$ et une taille moyenne de $12.7 \text{ cm} \pm 0.55$.

Une coloration orange-rouge intense et homogène de la chair a été observée chez les poissons supplémentés, traduisant une accumulation élevée de caroténoïdes dans les tissus musculaires ($509.34 \pm 12.76 \mu\text{g/g}$). L'enrichissement en astaxanthine a également entraîné une amélioration notable de la composition nutritionnelle du tilapia. Les poissons ont présenté une teneur élevée en protéines ($39.71 \pm 1.06\%$), et glucides ($2.56 \pm 0.04\%$) associée à une diminution relative de la teneur en lipides ($6.77 \pm 0.13\%$), traduisant une chair plus dense, de meilleure qualité et une utilisation énergétique plus efficace des nutriments.

Dans l'ensemble, ces résultats démontrent clairement que la supplémentation de l'alimentation du tilapia rouge en astaxanthine extraite des sous-produits de crevettes améliore significativement la croissance, la pigmentation et la valeur nutritionnelle du poisson. Cette étude met en évidence le potentiel de l'astaxanthine en tant que pigment naturel et antioxydant puissant, tout en soulignant l'intérêt de la valorisation durable des coproduits marins.

En perspective, ce travail ouvre la voie au développement de procédés d'extraction encore plus écologiques et performants afin d'augmenter le rendement en astaxanthine. Des études *in vivo* approfondies pourraient également être envisagées pour mieux comprendre les mécanismes d'action antioxydants et anti-inflammatoires de cette molécule. Enfin, l'astaxanthine extraite des déchets de crevettes présente un large potentiel d'applications, tant en aquaculture que dans les industries nutraceutique et pharmaceutique, ainsi que dans le développement de formulations alimentaires fonctionnelles répondant à la demande croissante pour des produits naturels et bénéfiques pour la santé.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Abd El-Hack, M. E., El-Saadony, M. T., Nader, M. M., Salem, H. M., El-Tahan, A. M., Soliman, S. M., & Khafaga, A. F. (2022). Effect of environmental factors on growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *International journal of biometeorology*, 66(11), 2183-2194.

Abd-Elkareem, E., Ahmed-Farid, O. A. E., & Said, N. M. (2025). Detection of toxicity induced by acrylonitrile exposure in rats and the protective role of astaxanthin using neurotransmitters in predicting 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine and protein carbonyl levels. *Food and Chemical Toxicology*, 202, 115518.

Abdel-Rahim, M. M., Elhetawy, A. I., Shawky, W. A., El-Zaeem, S. Y., & El-Dahhar, A. A. (2024). Enhancing Florida red tilapia aquaculture: biofloc optimization improves water quality, pathogen bacterial control, fish health, immune response, and organ histopathology across varied groundwater salinities. *Veterinary Research Communications*, 48(5), 2989-3006.

Abdol Wahab, N. R., Meor Mohd Affandi, M. M. R., Fakurazi, S., Alias, E., & Hassan, H. (2022). Nanocarrier system: State-of-the-art in oral delivery of astaxanthin. *Antioxidants*, 11(9), 1676.

Abimbola, A. O., Kolade, O. Y., Ibrahim, A. O., Oramadike, C. E., & Ozor, P. A. (2010). Proximate and anatomical weight composition of wild brackish *Tilapia guineensis* and *Tilapia melanotheron*. *Journal of Food Safety*, 12, 100-103.

Abou-Saleh, H., Ouhtit, A., Halade, G. V., & Rahman, M. M. (2019). Bone benefits of fish oil supplementation depend on its EPA and DHA content. *Nutrients*, 11(11), 2701.

Abras, A., García-Marín, J. L., Heras, S., Agulló, M., Vera, M., Planella, L., & Roldán, M. I. (2022). Genetic demography of the blue and red shrimp, *Aristeus antennatus*: a female-based case study integrating multilocus genotyping and morphometric data. *Genes*, 13(7), 1186.

Abuzar, Sharif, H. R., Sharif, M. K., Arshad, R., Rehman, A., Ashraf, W., ... & Al-Sameen, M. A. (2023). Potential industrial and nutritional applications of shrimp by-products: a review, *International Journal of Food Properties*, 26:2, 3407-3432.

Adda-Hanifi, M. (2007). Aspects de la biologie et de la pêche d'un Crustacé Décapode *Aristeus antennatus* (RISSO, 1816), exploité au niveau du littoral occidental Algérien. Thèse, Université Oran, Algérie.

- Adeshina, I., Jenyo-Oni, A., Emikpe, B. O., Ajani, E. K., & Abdel-Tawwab, M. (2019).** Stimulatory effect of dietary clove, *Eugenia caryophyllata*, bud extract on growth performance, nutrient utilization, antioxidant capacity, and tolerance of African catfish, *Clarias gariepinus* (B.), to *Aeromonas hydrophila* infection. *Journal of the World Aquaculture Society*, 50(2), 390-405.
- Adıgüzel, E., & Ülger, T. G. (2024).** A marine-derived antioxidant astaxanthin as a potential neuroprotective and neurotherapeutic agent: A review of its efficacy on neurodegenerative conditions. *European Journal of Pharmacology*, 977, 176706.
- Agulló, M., Heras, S., García-Marín, J. L., Vera, M., Abras, A., Planella, L., & Roldán, M. I. (2022).** An evaluation of the genetic connectivity and temporal stability of the blue and red shrimp *Aristeus antennatus*: A case study of spawning females' grounds in the Western Mediterranean Sea. *Hydrobiologia*, 849(9), 2043-2055.
- Ahmadkelayeh, S., Cheema, S. K., & Hawboldt, K. (2022).** Extraction of astaxanthin from atlantic shrimp by-products using fish oil: Process optimization and operational parameter effects. *Journal of Cleaner Production*, 371, 133609.
- Aijaz, M., & Kumar, A. (2025).** Astaxanthin: Unveiling biochemical mysteries, expanding horizons, and therapeutic opportunities in health science and biomedical research. *Trakya University Journal of Natural Sciences*, 26(1), 73-91.
- Akhmedzhanova, A. B., Ponomarev, S. V., Fedorovykh, Y. V., Levina, O. A., & Terganova, N. V. (2023).** The results of tilapia juveniles growing on production compound feeds with the antioxidant astaxanthin addition. *Vestnik of Astrakhan State Technical University. Series: Fishing Industry*, 4, 63–71.
- Akinyele, I. O., Shokunbi, O. S. (2015).** Concentrations of Mn, Fe, Cu, Zn, Cr, Cd, Pb, Ni in selected Nigerian tubers, legumes and cereals and estimates of the adult daily intakes. *Food Chemistry*, 173, 702-708.
- Alemu, L. A., Melese, A. Y., & Gulelat, D. H. (2013).** Effect of endogenous factors on proximate composition of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fillet from Lake Zeway. *American Journal of Research Communication*, 1(11), 405-410.
- AlFaris, N. A., Alshammari, G. M., AlTamimi, J. Z., AlMousa, L. A., Alagal, R. I., AlKehayez, N. M., ... & Yahya, M. A. (2022).** Evaluating the effects of different processing methods on the nutritional composition of shrimp and the antioxidant activity of shrimp powder. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(1), 640-649.

- Alishahi, M., Karamifar, M., & Mesbah, M. (2015).** Effects of astaxanthin and *Dunaliella salina* on skin carotenoids, growth performance and immune response of *Astronotus ocellatus*. *Aquaculture international*, 23, 1239-1248.
- Ambati, R. R., Phang, S. M., Ravi, S., & Aswathanarayana, R. G. (2014).** Astaxanthin: Sources, extraction, stability, biological activities and its commercial applications—A review. *Marine drugs*, 12(1), 128-152.
- Amiruddin, M. H., Norhalis, M. F., Sumarwati, S., & Norma-Rashid, Y. (2021).** Dietary effect of red paprika used to enhance the coloration of red tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Aquaculture and Fish Health*, 10(1), 25.
- Aneesh, P. A., Ajeeshkumar, K. K., Lekshmi, R. K., Anandan, R., Ravishankar, C. N., & Mathew, S. (2022).** Bioactivities of astaxanthin from natural sources, augmenting its biomedical potential: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 125, 81-90.
- Antonio-Estrada, C., Cruz-Domínguez, E., Martínez-López, M., Matías-Pérez, D., & García-Montalvo, I. A. (2024).** *Oreochromis niloticus* is a blue economy alternative for the Papaloapan region of the state of Oaxaca, Mexico. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 8, 1322838.
- Antu, M., Rahman, A., Ali, M. S., Ferdous, M. J., Ahmed, M. T., Ali, M. R., ... & Haq, M. (2024).** Recovery and Characterization of Calcium-Rich Mineral Powders Obtained from Fish and Shrimp Waste: A Smart Valorization of Waste to Treasure. *Sustainability* (2071-1050), 16(14).
- AOAC. 1990.** Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, Vol. II, 15th ed. Sec.985.29. The Association : Arlington, VA.
- Arczewski, F., Wójcikiewicz, M., Czyż, W., Kacperczyk, J., Dziedzic, K., Chuncia-Ileczko, M., ... & Krzciuk, M. (2025).** The Impact of Astaxanthin Supplementation on the Lipid Profile. *Quality in Sport*, 38, 57675-57675.
- Aribisala, J. O., Nkosi, S., Idowu, K., Nurain, I. O., Makolomakwa, G. M., Shode, F. O., & Sabiu, S. (2021).** Astaxanthin-Mediated Bacterial Lethality: Evidence from Oxidative Stress Contribution and Molecular Dynamics Simulation. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2021(1), 7159652.

- Arous, W. H., El-Bermawi, N. M., Shaltout, O. E., & Essa, M. A. (2014).** Effect of adding different carotenoid sources on growth performance, pigmentation, stress response and quality in red tilapia (*Oreochromis spp.*). *Middle East J. Appl. Sci*, 4(4), 988-999.
- Arzel, J., Métailler, R., Huelvan, C., Faure, A., & Guillaume, J. (1992).** The specific nutritional requirements of brown trout (*Salmo trutta*). *Buvisindi (Icel. Agr. Sci)*, 6: 77-92.
- Asker, D., Awad, T. S., Beppu, T., & Ueda, K. (2018).** Purification and identification of astaxanthin and its novel derivative produced by radio-tolerant *Sphingomonas astaxanthinifaciens*. *Microbial Carotenoids: Methods and Protocols*, 171-192.
- Assefa, W. W. (2015).** The food and feeding ecology of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, in Lake Hayq, Ethiopia. *International Journal of Ecology and Environmental Sciences*, 41(1-2), 55-65.
- AOAC (2000).** Official Methods of Analysis, 17th Ed. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, USA.
- Ayas, D., Ozogul, Y., & Yazgan, H. (2013).** The effects of season on fat and fatty acids contents of shrimp and prawn species. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 115(3), 356–362.
- Aydın, C. M., & Tıraşın, E. M. (2023).** Kırmızı-Mavi Karides *Aristeus antennatus*' un (Risso, 1816) Antalya Körfezi'ndeki Stok Dinamiği Üzerine Gözlemler. *Acta Aquatica Turcica*, 19(2), 88-108.
- Bai, C., Berman, J., Farre, G., Capell, T., Sandmann, G., Christou, P., & Zhu, C. (2017).** Reconstruction of the astaxanthin biosynthesis pathway in rice endosperm reveals a metabolic bottleneck at the level of endogenous β -carotene hydroxylase activity. *Transgenic research*, 26(1), 13-23.
- Baker, E. J., Cumberford, G., & Hanaway, P. (2025).** Recognizing the Health Benefits of Plant-Sourced Omega-3 Stearidonic Acid: Exploring Its Complementary Role to Preformed EPA/DHA. *Lipids*.
- Baki, M. A., Hossain, M. M., Akter, J., Quraishi, S. B., Shojib, M. F. H., Ullah, A. A., & Khan, M. F. (2018).** Concentration of heavy metals in seafood (fishes, shrimp, lobster and crabs) and human health assessment in Saint Martin Island, Bangladesh. *Ecotoxicology and environmental safety*, 159, 153-163.

- Bardhan, A., Sau, S. K., Khatua, S., Bera, M., & Paul, B. N. (2021).** A review on the production and culture techniques of monosex tilapia. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 10(1), 565-577.
- Barim-Oz, O., & Sahin, H. (2016).** The influence of dietary antioxidant on ovarian eggs and levels of vitamin E, C, A, astaxanthin, β -carotene and oxidative stress in tissues of *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz) during reproduction. *Cellular and Molecular Biology*, 62(14), 1-10.
- Barizi, A. Z. M., Azman, A. N. S. S., Saad, M. F. S., Abdullah, M. N. H., Lim, V., & Yong, Y. K. (2024).** Network Pharmacology and Molecular Docking Approaches of Astaxanthin (ATX) against Atherosclerosis. *Pharmacognosy Research*, 16(3).
- Bassig, R. A., Obinque, A. V., Nebres, V. T., Delos Santos, V. H., Peralta, D. M., & Madrid, A. J. J. (2021).** Utilization of shrimp head wastes into powder form as raw material for value-added products. *The Philippine Journal of Fisheries*, 28(1), 181-190.
- Besharat, M., Rajabi Islami, H., Soltani, M., & Abdolmajid Mousavi, S. (2021).** Effect of different levels of nanoliposome-coated astaxanthin on growth performance, body proximate composition, liver enzyme activity and pigmentation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Research*, 52(10), 5069-5077.
- Bezault, E., Balaesque, P., Toguyeni, A., Fermon, Y., Araki, H., Baroiller, J. F., & Rognon, X. (2011).** Spatial and temporal variation in population genetic structure of wild Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) across Africa. *BMC genetics*, 12(1), 102.
- Boon, C. S., McClements, D. J., Weiss, J., & Decker, E. A. (2010).** Factors influencing the chemical stability of carotenoids in foods. *Critical reviews in food science and nutrition*, 50(6), 515-532.
- Bougandoura A., D'Abrosca B., Ameddah S., Scognamiglio M., Mekkiou R., Fiorentino A., Benayache S. & Benayache F. (2016).** Chemical constituents and *in vitro* anti-inflammatory activity of *Cistanche violacea* Desf. (*Orobanchaceae*) extract. *Fitoterapia*, 109: 248–253.
- Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2013).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* Ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technology*, (9), 14.

- Boyd, C. E., & Green, B. W. (1998).** Dry Matter, Ash, and Elemental Composition of Pond-Cultured Tilapia *Oreochromis aureus* and *O. niloticus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 29(1), 125–128.
- Brasileiro, O. L., Cavaleiro, J. M. O., Prado, J. P. D. S., Anjos, A. G. D., & Cavaleiro, T. T. B. (2012).** Determination of the chemical composition and functional properties of shrimp waste protein concentrate and lyophilized flour. *Ciência e Agrotecnologia*, 36, 189-194.
- Brendler, T., & Williamson, E. M. (2019).** Astaxanthin: How much is too much? A safety review. *Phytotherapy Research*, 33(12), 3090-3111.
- Britton, G. (2020).** Carotenoid research: History and new perspectives for chemistry in biological systems. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 158699.
- Britton, G., Liaaen-Jensen, S., & Pfander, H. (Eds.). (2012).** Carotenoids: handbook. Birkhäuser.
- Brotosudarmo, T. H. P., Limantara, L., Setiyono, E., & Heriyanto. (2020).** Structures of astaxanthin and their consequences for therapeutic application. *International Journal of Food Science*, 2020(1), 2156582.
- 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(3), 671-675.
- Cabanillas-Bojórquez, L. A., Gutiérrez-Grijalva, E. P., Castillo-López, R. I., Contreras-Angulo, L. A., Angulo-Escalante, M. A., López-Martínez, L. X., ... & Heredia, J. B. (2021).** Bioprocessing of shrimp waste using novel industrial by-products: effects on nutrients and lipophilic antioxidants. *Fermentation*, 7(4), 312.
- Cahú, T. B., Santos, S. D., Mendes, A., Córdula, C. R., Chavante, S. F., Carvalho Jr, L. B., ... & Bezerra, R. S. (2012).** Recovery of protein, chitin, carotenoids and glycosaminoglycans from Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) processing waste. *Process Biochemistry*, 47(4), 570-577.
- Cai, J. (2025).** Tilapia as an aquaculture species. In *Tilapia: Aquaculture, Biology and Health Management* (pp. 26-60). GB: CABI.

- Cao, Z., Deng, W., Dong, R., Yan, Y., & Jiang, Q. (2024).** Low temperature inhibits food intake via TRPA1 channel activation in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Molecular and Cellular Endocrinology*, 592, 112333.
- Capelli, B., & Cysewski, G. (2007).** Natural Astaxanthin. The world's best kept health secret. Cyanotech Corporation, Kailua-Kina.
- Carmen, P. C., Marlon, A. T., Luz, M. N., María, T. Q., & Ricardo, A. P. (2023).** Influence of pre-treatment and drying process of the shrimp (*Litopenaeus vannamei*) exoskeleton for balanced feed production. *Heliyon*, 9(6).
- Carreras Colom, E. (2021).** Unravelling the (micro) plastic threat: the case study of plastic ingestion in *Aristeus antennatus* and *Nephrops norvegicus* from the NW Mediterranean Sea and its potential impact on health condition. *Environ. Pollut*, 263, 114567.
- Carreton, M., Planella, L., Heras, S., García-Marín, J. L., Agulló, M., Clavel-Henry, M., ... & Roldán, M. I. (2019).** Morphological identification and molecular confirmation of the deep-seablue and red shrimp *Aristeus antennatus* larvae. *Peer J*, 7, e6063.
- Cartes, J. E., Papiol, V., & Guijarro, B. (2008).** The feeding and diet of the deep-sea shrimp *Aristeus antennatus* off the Balearic Islands (Western Mediterranean): Influence of environmental factors and relationship with the biological cycle. *Progress in Oceanography*, 79(1), 37-54.
- Chakraborty, K. (2025).** Recent Advances in Shrimp Nutrition and the Nutritional Significance of Shrimp to Human Health. *Shrimp Culture Technology: Farming, Health Management and Quality Assurance*, 313-339.
- Chang, M. X., & Xiong, F. (2020).** Astaxanthin and its effects in inflammatory responses and inflammation-associated diseases: recent advances and future directions. *Molecules*, 25(22), 5342.
- Chartosia, N., Tzomos, T. H., Kitsos, M. S., Karani, I., Tselepides, A., & Koukouras, A. (2005).** Diet comparison of the bathyal shrimps, *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) and *Aristaeomorpha foliacea* (Risso, 1827) (Decapoda, *Aristeidae*) in the eastern Mediterranean. *Crustaceana*, 273-284.
- Chaudhary, P., Janmeda, P., Docea, A. O., Yeskaliyeva, B., Abdull Razis, A. F., Modu, B., ... & Sharifi-Rad, J. (2023).** Oxidative stress, free radicals and antioxidants: potential crosstalk in the pathophysiology of human diseases. *Frontiers in chemistry*, 11, 1158198.

- Chen, G., Wang, B., Han, D., Sommerfeld, M., Lu, Y., Chen, F., & Hu, Q. (2015).** Molecular mechanisms of the coordination between astaxanthin and fatty acid biosynthesis in *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyceae). *The Plant Journal*, 81(1), 95-107.
- Chen, X., Chen, J., Huang, L., Wu, B., Wu, C., He, J., & Bai, Z. (2024).** PcASTA in *Procambarus clarkii*, a novel astaxanthin gene affecting shell color. *Frontiers in Marine Science*, 10, 1343126.
- Cheng, X. Y., Xiong, Y. J., Yang, M. M., & Zhu, M. J. (2019).** Preparation of astaxanthin mask from *Phaffia rhodozyma* and its evaluation. *Process Biochemistry*, 79, 195-202.
- Cheong, J. Y., Muskhazli, M., Ahmad, S. A., & Adli, A. A. (2020).** Three dimensional optimisation for the enhancement of astaxanthin recovery from shrimp shell wastes by *Aeromonas hydrophila*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 27, 101649.
- Chintong, S., Phatvej, W., Rerk-Am, U., Waiprib, Y., & Klaypradit, W. (2019).** In vitro antioxidant, antityrosinase, and cytotoxic activities of astaxanthin from shrimp waste. *Antioxidants*, 8(5), 128.
- Chisté, R. C., Freitas, M., Mercadante, A. Z., & Fernandes, E. (2014).** Carotenoids are effective inhibitors of in vitro hemolysis of human erythrocytes, as determined by a practical and optimized cellular antioxidant assay. *Journal of Food Science*, 79(9), H1841-H1847.
- Choi, S. K., Park, Y. S., Choi, D. K., & Chang, H. I. (2008).** Effects of astaxanthin on the production of NO and the expression of COX-2 and iNOS in LPS-stimulated BV2 microglial cells. *J Microbiol Biotechnol*, 18(12), 1990-1996.
- Choi, S. S., Seo, Y. B., Nam, S. W., & Kim, G. D. (2021).** Enhanced production of astaxanthin by co-culture of *Paracoccus haeundaensis* and lactic acid bacteria. *Frontiers in Marine Science*, 7, 597553.
- Chou, B.-S., & Shiau, S.-Y. (1996).** Optimal dietary lipid level for growth of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* X *Oreochromis aureus*. *Aquaculture*, 143(2), 185–195.
- Choubert, G., Mendes-Pinto, M. M., & Morais, R. (2006).** Pigmenting efficacy of astaxanthin fed to rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: effect of dietary astaxanthin and lipid sources. *Aquaculture*, 257(1-4), 429-436.
- Christaki, E., Bonos, E., Giannenas, I., & Florou-Paneri, P. (2013).** Functional properties of carotenoids originating from algae. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(1), 5-11.

- Chukwu, O. (2009).** Influences of drying methods on nutritional properties of tilapia fish (*Oreochromis niloticus*). *World Journal of Agricultural Sciences*, 5(2), 256-258.
- Ciaraldi, T. P., Boeder, S. C., Mudaliar, S. R., Giovannetti, E. R., Henry, R. R., & Pettus, J. H. (2023).** Astaxanthin, a natural antioxidant, lowers cholesterol and markers of cardiovascular risk in individuals with prediabetes and dyslipidaemia. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 25(7), 1985-1994.
- Clark, N. J., Fischer, A. C., Durndell, L., Galloway, T. S., & Thompson, R. C. (2023).** Translocation of ¹⁴C-polystyrene nanoplastics into fish during a very-low concentration dietary exposure. *Chemosphere*, 341, 140058.
- Copat, C., Favara, C., Tomasello, M. F., Sica, C., Grasso, A., Dominguez, H. G., ... & Ferrante, M. (2025).** Astaxanthin in cancer therapy and prevention. *Biomedical Reports*, 22(4), 66.
- Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Pinal-Mansilla, J. D., Wesche-Ebellling, P. (1994).** Effect of different carbohydrate sources on the growth of *Penaeus vannamei*: economical impact. *Aquaculture*, 123(3-4), 349–360.
- Cubbon, K., Irving, A. D., Taggart, M. A., Li, Y., Bell, M. C., & Capper, A. (2025).** Metal accumulation in commercially important velvet crab (*Necorapuber*) in the Orkney islands, Scotland. *Regional Studies in Marine Science*, 104313.
- Dai, S., Zang, J., & Lv, C. (2022).** Distribution, purification, and delivery of astaxanthin in food system. *J Food Sci Technol*, 7(2), 456-467.
- Dallarés, S., Carbonell, A., & Cartes, J. E. (2023).** Description of a first-settled stage of *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) and new insights into distribution and life history of early juveniles in the NW Mediterranean Sea. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 196, 104020.
- Dang, Y., Li, Z., & Yu, F. (2024).** Recent advances in astaxanthin as an antioxidant in food applications. *Antioxidants*, 13(7), 879.
- Davan, I., Fakurazi, S., Alias, E., Ibrahim, N. I., Hwei, N. M., & Hassan, H. (2023).** Astaxanthin as a potent antioxidant for promoting bone health: an up-to-date review. *Antioxidants*, 12(7), 1480.

- Dave, D., Liu, Y., Pohling, J., Trenholm, S., & Murphy, W. (2020).** Astaxanthin recovery from Atlantic shrimp (*Pandalus borealis*) processing materials. *Bioresource Technology Reports*, 11, 100535.
- Davinelli, S., Saso, L., D'Angeli, F., Calabrese, V., Intrieri, M., & Scapagnini, G. (2022).** Astaxanthin as a Modulator of Nrf2, NF-κB, and Their Crosstalk: Molecular Mechanisms and Possible Clinical Applications. *Molecules*, 27(2), 502.
- Dayakar, B., Xavier, M., Ngasotter, S., Dhanabalan, V., Porayil, L., Balange, A. K., & Nayak, B. B. (2024).** Extraction, optimization, and functional quality evaluation of carotenoproteins from shrimp processing side streams through enzymatic process. *Environmental Science and Pollution Research*, 31(53), 62315-62328.
- De Aguiar Saldanha Pinheiro, A. C., Martí-Quijal, F. J., Barba, F. J., Tappi, S., & Rocculi, P. (2021).** Innovative non-thermal technologies for recovery and valorization of value-added products from crustacean processing by-products—An opportunity for a circular economy approach. *Foods*, 10(9), 2030.
- De Aguiar Saldanha Pinheiro, A. C., Martí-Quijal, F. J., Barba, F. J., Benítez-González, A. M., Meléndez-Martínez, A. J., Castagnini, J. M., ... & Rocculi, P. (2023).** Pulsed electric fields (PEF) and accelerated solvent extraction (ASE) for valorization of red (*Aristeus antennatus*) and camarote (*Melicerus kerathurus*) shrimp side streams: antioxidant and HPLC evaluation of the carotenoid astaxanthin recovery. *Antioxidants*, 12(2), 406.
- De Bruijn, W. J., Weesepeel, Y., Vincken, J. P., & Gruppen, H. (2016).** Fatty acids attached to all-trans-astaxanthin alter its cis–trans equilibrium, and consequently its stability, upon light-accelerated autoxidation. *Food Chemistry*, 194, 1108-1115.
- Debnath, T., Bandyopadhyay, T. K., Vanitha, K., Bobby, M. N., Tiwari, O. N., Bhunia, B., & Muthuraj, M. (2024).** Astaxanthin from microalgae: A review on structure, biosynthesis, production strategies and application. *Food Research International*, 176, 113841.
- Denga, M., Qu, Y., Wu, T., Na, Y., Liang, N., & Zhao, L. (2024).** Amino acid-based natural deep eutectic solvent combined with ultrasonic extraction: Green extraction of astaxanthin from shrimp shells. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 14(19), 24631-24640.
- Dergal, N. B. (2015).** Evaluation des systèmes de management de la sécurité et de la qualité de l'aquaculture du tilapia du Nil" *Oreochromis niloticus*" dans l'Ouest algérien. Université de Liege (Belgium).

- Doğan, G., & Ertan, Ö. O. (2017).** Determination of amino acid and fatty acid composition of gold band goat fish [*Upeneus moluccensis* (Bleeker, 1855)] fishing from the Gulf of Antalya (Turkey). *International Aquatic Research*, 9(4), 313-327.
- Donoso, A., González-Durán, J., Muñoz, A. A., González, P. A., & Agurto-Muñoz, C. (2021).** Therapeutic uses of natural astaxanthin: An evidence-based review focused on human clinical trials. *Pharmacological Research*, 166, 105479.
- Du, S., Li, R., Liu, Y., Yang, W., & Ye, Z. (2025).** High $\omega 6/\omega 3$ polyunsaturated fatty acid (PUFA) ratio impairs intestinal mucosal barrier function via ROS/TLR4/NF- κ B-mediated aberrant expression of tight junction proteins. *Food Bioscience*, 66, 106225.
- Eggink, K. M., Gonçalves, R., & Skov, P. V. (2025).** Shrimp processing waste in aquaculture feed: nutritional value, applications, challenges, and prospects. *Reviews in Aquaculture*, 17(1), e12975.
- El Boumlasy, S., Mangraviti, D., Arena, K., Cacciola, F., Asraoui, F., & Debdoubi, A. (2024).** Determination of astaxanthin and astaxanthin esters in three samples of shrimp waste (*Parapenaeus longirostris*) by high performance liquid chromatography coupled photodiode array and mass spectrometry detection. *Natural Product Research*, 38(16), 2901-2908.
- Eldessouki, E. A., Elshopakey, G. E., Elbahnaswy, S., Shakweer, M. S., Abdelwarith, A. A., Younis, E. M., ... & Eissa, E. S. H. (2024).** Influence of astaxanthin-enriched *Haematococcus pluvialis* microalgae on the growth efficacy, immune response, antioxidant capacity, proinflammatory cytokines, and tissue histomorphology of hybrid red tilapia. *Aquaculture International*, 32(6), 7447-7468.
- Elgar, K. (2022).** EPA/DHA: A review of clinical use and efficacy. *Nutr. Med. J.*, 2, 97-132.
- El-Sayed, A.F.M.(2020).** Tilapia culture, 2nd edn. Elsevier/Academic Press, London and Oxford, p 348.
- El-Sayed, A. F. M., & Fitzsimmons, K. (2023).** From Africa to the world—The journey of Nile tilapia. *Reviews in Aquaculture*, 15, 6-21.
- El-Shafai, S. A., El-Gohary, F. A., Verreth, J. A., Schrama, J. W., & Gijzen, H. J. (2004).** Apparent digestibility coefficient of duckweed (*Lemna minor*), fresh and dry for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Aquaculture Research*, 35(6), 574-586.

- Erzurumlu, Y., Catakli, D., & Dogan, H. K. (2023).** Potent carotenoid astaxanthin expands the anti-cancer activity of cisplatin in human prostate cancer cells. *Journal of Natural Medicines*, 77(3), 572-583.
- Eymard, S. (2003).** Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (*Trachurus trachurus*) : choix des procédés. Thèse de doctorat. Université de Nantes.
- Fakhri, S., Dargahi, L., Abbaszadeh, F., & Jorjani, M. (2018).** Astaxanthin attenuates neuroinflammation contributed to the neuropathic pain and motor dysfunction following compression spinal cord injury. *Brain research bulletin*, 143, 217-224.
- Faraone, I., Sinisgalli, C., Ostuni, A., Armentano, M. F., Carmosino, M., Milella, L., ... & Khan, H. (2020).** Astaxanthin anticancer effects are mediated through multiple molecular mechanisms: A systematic review. *Pharmacological Research*, 155, 104689.
- Fassett, R. G., & Coombes, J. S. (2009).** Astaxanthin, oxidative stress, inflammation and cardiovascular disease. *Future cardiology*, 5(4), 333-342.
- Fassett, R. G., & Coombes, J. S. (2011).** Astaxanthin: a potential therapeutic agent in cardiovascular disease. *Marine drugs*, 9(3), 447-465.
- Fernandes, T. M., Silva, J. A. da, Silva, A. H. A. da, Cavaleiro, J. M. de O., & Conceição, M. L. da. (2011).** Flour production from shrimp by-products and sensory evaluation of flour-based products. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48(8), 962–967.
- Ferrari, M., Folli, C., Pincolini, E., McClintock, T. S., Rössle, M., Berni, R., & Cianci, M. (2012).** Structural characterization of recombinant crustacyanin subunits from the lobster *Homarus americanus*. *Structural Biology and Crystallization Communications*, 68(8), 846-853.
- Ferreira, L. M. D. M. C., Pereira, R. R., Carvalho, F. B. D., Silva Santos, A., Ribeiro-Costa, R. M., & Carréra Silva Júnior, J. O. (2021).** Green extraction by ultrasound, microencapsulation by spray drying and antioxidant activity of the tucuma coproduct (*Astrocaryum vulgare* mart.) almonds. *Biomolecules*, 11(4), 545.
- Ficano, G., Galdi, G., De Sio, F., Rapacciuolo, M., Sandei, L., & Cacace, D. (2024).** "Green" extraction of bioactive molecules from vegetables and fish industry by-products. *Environmental engineering & management journal (EEMJ)*, 23(10).
- Foss, B. J., Sliwka, H. R., Partali, V., Cardounel, A. J., Zweier, J. L., & Lockwood, S. F. (2004).** Direct superoxide anion scavenging by a highly water-dispersible carotenoid

phospholipid evaluated by electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 14(11), 2807-2812.

Frantz, T. S., de Farias, B. S., Leite, V. R. M., Kessler, F., Cadaval Jr, T. R. S. A., & de Almeida Pinto, L. A. (2020). Preparation of new biocoagulants by shrimp waste and its application in coagulation-flocculation processes. *Journal of Cleaner Production*, 269, 122397.

Froese, R., & Pauly, D. (2018). Fish Base 2018, version January, 2018. World Wide Web electronic publication Retrieved from <http://www.fishbase.org>.

Fuentes-Silva, C., Soto-Zarazúa, G. M., Torres-Pacheco, I., & Flores-Rangel, A. (2013). Male tilapia production techniques: a mini-review. *African journal of Biotechnology*, 12(36).

Gao, Y., Zhang, X., Wei, J., Sun, X., Yuan, J., Li, F., & Xiang, J. (2015). Whole transcriptome analysis provides insights into molecular mechanisms for molting in *Litopenaeus vannamei*. *PloS one*, 10(12), e0144350.

Gao, Y. J., Yang, H. J., Liu, Y. J., Chen, S. J., Guo, D. Q., Yu, Y. Y., & Tian, L. X. (2014). Effects of graded levels of threonine on growth performance, biochemical parameters and intestine morphology of juvenile grass carp *Ctenopharyngodon idella*. *Aquaculture*, 424, 113-119.

Gildberg, A., & Stenberg, E. (2001). A new process for advanced utilization of shrimp waste. *Process Biochemistry*, 36, 809–812.

Gimeno, M., Ramírez-Hernández, J. Y., Martínez-Ibarra, C., Pacheco, N., García-Arrazola, R., Bárzana, E., & Shirai, K. (2007). One-solvent extraction of astaxanthin from lactic acid fermented shrimp wastes. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(25), 10345-10350.

Gómez-Estaca, J., Calvo, M. M., Álvarez-Acero, I., Montero, P., & Gómez-Guillén, M. C. (2017). Characterization and storage stability of astaxanthin esters, fatty acid profile and α -tocopherol of lipid extract from shrimp (*L. vannamei*) waste with potential applications as food ingredient. *Food Chemistry*, 216, 37-44.

Gonçalves, A. A., & Ribeiro, J. L. D. (2009). Effects of phosphate treatment on quality of red shrimp (*Pleoticus muelleri*) processed with cryomechanical freezing. *LWT-Food Science and Technology*, 42(8), 1435-1438.

Goto, S., Kogure, K., Abe, K., Kimata, Y., Kitahama, K., Yamashita, E., & Terada, H. (2001). Efficient radical trapping at the surface and inside the phospholipid membrane is

responsible for highly potent antiperoxidative activity of the carotenoid astaxanthin. *Biochimica et biophysica acta (BBA)-biomembranes*, 1512(2), 251-258.

Goula, A. M., Ververi, M., Adamopoulou, A., & Kaderides, K. (2017). Green ultrasound-assisted extraction of carotenoids from pomegranate wastes using vegetable oils. *Ultrasonics sonochemistry*, 34, 821-830.

Govindappa M., Naga Sravya S., Poojashri M.N., Sadananda T.S., Chandrappa C. P., Santoyo G., Sharanappa P. and Anil Kumar N.V. (October 2011). Antimicrobial, antioxidant and in vitro antiinflammatory activity and phytochemical screening of water extract of *Wedelia trilobata* (L.) Hitchc. J. *Journal of Medicinal Plants Research*. Vol. 5(24), p. 5718-5729.

Goyudianto, B. A., Meliana, C., Muliani, D., Jeslin, J., Sadeli, Y. E., & Ratnasari, N. R. P. (2021). The stability of phycocyanin, phycoerythrin, and astaxanthin from algae towards temperature, pH, light, and oxygen as a commercial natural food colorant. *Indonesian Journal of Life Sciences* Vol, 3(02).

Grimmig, B., Kim, S. H., Nash, K., Bickford, P. C., & Douglas Shytle, R. (2017). Neuroprotective mechanisms of astaxanthin: a potential therapeutic role in preserving cognitive function in age and neurodegeneration. *Geroscience*, 39, 19-32.

Gunasekera, R. M., Shim, K. F., & Lam, T. J. (1997). Influence of dietary protein content on the distribution of amino acids in oocytes, serum and muscle of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture*, 152(1-4), 205–221.

Han, C., Zhang, X., Li, C., Sui, J., Wang, X., Ma, D., ... & An, Q. (2025). High-cis astaxanthin nano lipid carrier: Preparation and bioavailability analysis. *Food Bioscience*, 106780.

Han, T., Li, X., Wang, J., Wang, C., Yang, M., & Zheng, P. (2018). Effects of dietary astaxanthin (AX) supplementation on pigmentation, antioxidant capacity and nutritional value of swimming crab, *Portunus trituberculatus*. *Aquaculture*, 490, 169-177.

Han, Y., Kim, D. H., & Pack, S. P. (2024). Marine-Derived Bioactive Ingredients in Functional Foods for Aging: Nutritional and Therapeutic Perspectives. *Marine Drugs*, 22(11), 496.

Handayani, A. D., Indraswati, N., & Ismadji, S. (2008). Extraction of astaxanthin from giant tiger (*Panaeus monodon*) shrimp waste using palm oil: studies of extraction kinetics and thermodynamic. *Bioresource technology*, 99(10), 4414-4419.

- Harayama, T., & Antonny, B. (2023).** Beyond fluidity: the role of lipid unsaturation in membrane function. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 15(7), a041409.
- Harith, Z. T., Sukri, S. M., Remlee, N. F. S., Sabir, F. N. M., & Zakaria, N. N. A. (2024).** Effects of dietary astaxanthin enrichment on enhancing the colour and growth of red tilapia, *Oreochromis sp.* *Aquaculture and Fisheries*, 9(1), 52-56.
- Hayashi, M., Ishibashi, T., Kuwahara, D., & Hirasawa, K. (2021).** Commercial production of astaxanthin with *Paracoccus carotinifaciens*. In *Carotenoids: Biosynthetic and biofunctional approaches* (pp. 11-20). Singapore: Springer Singapore.
- Hemre, G. I., Mommsen, T. P., & Krogdahl, Å. (2002).** Carbohydrates in fish nutrition: effects on growth, glucose metabolism and hepatic enzymes. *Aquaculture nutrition*, 8(3), 175-194.
- Heras, S., Planella, L., García-Marín, J. L., Vera, M., & Roldán, M. I. (2019).** Genetic structure and population connectivity of the blue and red shrimp *Aristeus antennatus*. *Scientific Reports*, 9(1), 13531
- Heu, M. S., Kim, J. S., & Shahidi, F. (2003).** Components and nutritional quality of shrimp processing by-products. *Food chemistry*, 82(2), 235-242.
- Hirakida, H., Nakamura, S., Inagaki, S., Tsuji, S., Hayashi, M., Shimazawa, M., & Hara, H. (2022).** Anti-diabetic effects of astaxanthin-rich extract derived from *Paracoccus carotinifaciens* on pancreatic β cells. *Journal of Functional Foods*, 97, 105252.
- Hong, M. E., Hwang, S. K., Chang, W. S., Kim, B. W., Lee, J., & Sim, S. J. (2015).** Enhanced autotrophic astaxanthin production from *Haematococcus pluvialis* under high temperature via heat stress-driven Haber–Weiss reaction. *Applied microbiology and biotechnology*, 99(12), 5203-5215.
- Hosney, A., Ullah, S., & Barčauskaitė, K. (2022).** A review of the chemical extraction of chitosan from shrimp wastes and prediction of factors affecting chitosan yield by using an artificial neural network. *Marine Drugs*, 20(11), 675.
- Hosney, A., Urbonavičius, M., Varnagiris, Š., Ignatjev, I., Ullah, S., & Barčauskaitė, K. (2025).** Feasibility study on optimizing chitosan extraction and characterization from shrimp biowaste via acidic demineralization. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 15(8), 12673-12687.

- Hossain, A., & Shahidi, F. (2024).** Upcycling shellfish waste: Distribution of aminoacids, minerals, and carotenoids in body parts of North Atlantic crab and shrimp. *Foods*, 13(17), 2700.
- Hu, J., Lu, W., Lv, M., Wang, Y., Ding, R., & Wang, L. (2019).** Extraction and purification of astaxanthin from shrimp shells and the effects of different treatments on its content. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 29, 24-29.
- Huang, J. J., Xie, Q., Lin, S., Xu, W., & Cheung, P. C. K. (2025).** Microalgae-derived astaxanthin: Bioactivities, biotechnological approaches and industrial technologies for its production. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-35.
- Hussein, G., Sankawa, U., Goto, H., Matsumoto, K., & Watanabe, H. (2006).** Astaxanthin, a carotenoid with potential in human health and nutrition. *Journal of natural products*, 69(3), 443-449.
- Hussein, M. A. (2015).** Cardioprotective effects of astaxanthin against isoproterenol-induced cardiotoxicity in rats. *J Nutr Food Sci*, 5(335), 2.
- Hwang, E. J., Jeong, Y. I., Lee, K. J., Yu, Y. B., Ohk, S. H., & Lee, S. Y. (2024).** Anticancer activity of astaxanthin-incorporated chitosan nanoparticles. *Molecules*, 29(2), 529.
- Hwang, S. H., Kim, J. M., Kim, S., Yoon, M. J., & Park, K. S. (2020).** Chemical transformation of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* improves its antioxidative and anti-inflammatory activities. *ACS omega*, 5(30), 19120-19130.
- Ibrahim, H. M., Salama, M. F., & El-Banna, H. A. (1999).** Shrimp's waste: Chemical composition, nutritional value and utilization. *Food/Nahrung*, 43(6), 418-423.
- Ishikawa, T., Shimose, T., & Tachihara, K. (2012).** Life history of an invasive and unexploited population of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and geographical variation across its native and non-native ranges. *Environmental Biology of Fishes*, 96(5), 603–616.
- Islam, A., Mondal, S., Bhowmik, S., Islam, S., & Begum, M. (2017).** A comparative analysis of the proximate composition of wild and cultured prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) and shrimp (*Penaeus monodon*). *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 5(4), 59-62.
- Islam, S., Bhowmik, S., Majumdar, P. R., Srzednicki, G., Rahman, M., & Hossain, M.A. (2021).** Nutritional profile of wild, pond-, gher-and cage-cultured tilapia in Bangladesh. *Heliyon*, 7(5).

- Ismahene, G. (2016).** Évaluation de la valeur nutritionnelle et effets de facteurs environnementaux chez les crustacés. Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar — Annaba, Algérie, 128 p.
- Ismail, M., El-Feky, A. R., Zaghloul, E., Madkour, F. F., Elnemr, A., & Ibrahim, H. A. (2023).** Extraction of chitosan from *Aristeus antennatus* shells as a prior for biodegradable plastic production. *Alfarama Journal of Basic & Applied Sciences*, 4(1), 155-170.
- Jabarpour, M., Aleyasin, A., Shabani Nashtaei, M., & Amidi, F. (2024).** Astaxanthin supplementation impact on insulin resistance, lipid profile, blood pressure, and oxidative stress in polycystic ovary syndrome patients: A triple-blind randomized clinical trial. *Phytotherapy Research*, 38(1), 321-330.
- Jafari, R., Homaei, A., Ahmadi, A. R., & Kamrani, E. (2024).** Optimization and identification of astaxanthin esters from shrimp waste using microbial fermentation method. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 14(18), 22893-22908.
- Jia, J., Chen, Z., Li, Q., Li, F., Liu, S., & Bao, G. (2024).** The enhancement of astaxanthin production in *Phaffia rhodozyma* through a synergistic melatonin treatment and zinc finger transcription factor gene overexpression. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1367084.
- Jia, Y., Wu, C., Kim, J., Kim, B., & Lee, S. J. (2016).** Astaxanthin reduces hepatic lipid accumulations in high-fat-fed C57BL/6J mice via activation of perox isomeproliferator-activated receptor (PPAR) alpha and inhibition of PPAR gamma and Akt. *The Journal of nutritional biochemistry*, 28, 9-18.
- Jiang, J., Xiao, F., Yang, L., Zeng, Y., Chen, J., Zhu, H., & Liu, L. (2024).** Protective effect of astaxanthin on chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome in rat through modulating NF-κB signaling pathway. *Translational Andrology and Urology*, 13(9), 1971.
- Jim, F., Garamumhango, P., & Musara, C. (2017).** Comparative analysis of nutritional value of *Oreochromis niloticus* (Linnaeus), Nile tilapia, meat from three different ecosystems. *Journal of Food Quality*, 2017(1), 6714347.
- Kalinowski, C. T., Betancor, M. B., Torrecillas, S., Sprague, M., Larroquet, L., Véron, V., Panserat, S., Izquierdo, M. S., Kaushik, S. J., & Fontagné-Dicharry, S. (2023).** More Than an Antioxidant: Role of Dietary Astaxanthin on Lipid and Glucose Metabolism in the Liver of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Antioxidants*, 12(1), 136. <https://doi.org/10.3390/antiox12010136>

- Kandra, P., Challa, M. M., & Kalangi Padma Jyothi, H. (2012).** Efficient use of shrimp waste: present and future trends. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 93, 17-29.
- Kanwugu, O. N., Shatunova, S. A., Glukhareva, T. V., & Kovaleva, E. G. (2020).** Effect of different sugar sources on *P. rhodozyma* Y1654 growth and astaxanthin production. *Agron Res* 18:1700–1716.
- Kapiris, K. (Ed.). (2012).** Kapiris, K. Feeding Habits of Both Deep-Water Red Shrimps, *Aristaeomorpha foliacea* and *Aristeus antennatus* (Decapoda, *Aristeidae*) in the Ionian Sea (E. Mediterranean). In Food Quality; Kapiris, K., Ed.; InTech: London, UK; ISBN 978-953-51-0560-2.
- Kapiris, K., & Thessalou-Legaki, M. (2009).** Comparative Reproduction Aspects of the Deep-water Shrimps *Aristaeomorpha foliacea* and *Aristeus antennatus* (Decapoda, *Aristeidae*) in the Greek Ionian Sea (Eastern Mediterranean). *International Journal of Zoology*, 2009(1), 979512.
- Kapiris, K., & Thessalou-Legaki, M. (2011).** Feeding ecology of the deep-water blue–red shrimp *Aristeus antennatus* (Decapoda: *Aristeidae*) in the Greek Ionian Sea (E. Mediterranean). *Journal of Sea Research*, 65(1), 151-160.
- Karpiński, T. M., Ożarowski, M., Paczkowska-Walendowska, M., & Cielecka-Piontek, J. (2025).** Astaxanthin demonstrates moderate or weak activity against bacterial and fungal pathogens. *Food Bioscience*, 65, 106026.
- Katan, T., Xue, X., Caballero-Solares, A., Taylor, R. G., Parrish, C. C., & Rise, M. L. (2021).** Influence of Varying Dietary $\omega 6$ to $\omega 3$ Fatty Acid Ratios on the Hepatic Transcriptome, and Association with Phenotypic Traits (Growth, Somatic Indices, and Tissue Lipid Composition), in Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *Biology*, 10(7), 578.
- Katsumata, T., Ishibashi, T., & Kyle, D. (2014).** A sub-chronic toxicity evaluation of a natural astaxanthin-rich carotenoid extract of *Paracoccus carotinifaciens* in rats. *Toxicology Reports*, 1, 582-588.
- Kavitha, K., Kowshik, J., Kishore, T. K. K., Baba, A. B., & Nagini, S. (2013).** Astaxanthin inhibits NF- κ B and Wnt/ β -catenin signaling pathways via inactivation of Erk/MAPK and PI3K/Akt to induce intrinsic apoptosis in a hamster model of oral cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1830(10), 4433-4444.

- Kawamura, A., Aoi, W., Abe, R., Kobayashi, Y., Wada, S., Kuwahata, M., & Higashi, A. (2020).** Combined intake of astaxanthin, β -carotene, and resveratrol elevates protein synthesis during muscle hypertrophy in mice. *Nutrition*, 69, 110561.
- Kaya, A., Ural, G. N., & Topuz, O. K. (2025).** Optimization of Ultrasonication-Assisted Astaxanthin Extraction Conditions from Red Giant Shrimp (*Aristaeomorpha foliacea*) Processing Waste. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 34(2), 82-91.
- Kennouche, H., & Nouar, A. (2013).** Feeding intensity and condition factor of the deep-sea shrimp *Aristaeomorpha antennatus* along the Algerian coast. *Crustaceana*, 86(7–8), 930–945.
- Khandual, S. (2019).** Microbial source of Astaxanthin: its use as a functional food and therapeutic agent. *International Journal of Biotechnology and Bioengineering*, 5(6), 110-118.
- Khayyal, M. T., Teaima, M. H., Marzouk, H. M., -Hazek, R. M. E., Behnam, F., & Behnam, D. (2024).** Comparative Pharmacokinetic Study of Standard Astaxanthin and its Micellar Formulation in Healthy Male Volunteers. *European journal of drug metabolism and pharmacokinetics*, 49(4), 467–475.
- Kherbache, A. (2023).** Activités anti-inflammatoires et antioxydantes d'extraits de *Helichrysum stoechas* (L.) Moench (Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif 1, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département de Biochimie, Sétif, Algérie).
- KHERRAZ, A. (2006).** Premières Données sur la Crevette Rouge, *Aristeus antennatus* (RISSO, 1816) de la région Oranaise. Biologie-Ecologie. Thèse de doctorat, Université d'Oran 1 Ahmed Ben Bella
- Kim, D. Y., Vijayan, D., Praveenkumar, R., Han, J. I., Lee, K., Park, J. Y., ... & Oh, Y. K. (2016).** Cell-wall disruption and lipid/astaxanthin extraction from microalgae: *Chlorella* and *Haematococcus*. *Bioresource technology*, 199, 300-310.
- Kim, H. Y., Kim, Y. M., & Hong, S. (2019).** Astaxanthin suppresses the metastasis of colon cancer by inhibiting the MYC-mediated downregulation of microRNA-29a-3p and microRNA-200a. *Scientific Reports*, 9(1), 9457.
- Kim, J. H., Chang, M. J., Choi, H. D., Youn, Y. K., Kim, J. T., Oh, J. M., & Shin, W. G. (2011).** Protective effects of *Haematococcus* astaxanthin on oxidative stress in healthy smokers. *Journal of medicinal food*, 14(11), 1469-1475.

- Kiouri, D. P., Chasapis, C. T., Mavromoustakos, T., Spiliopoulou, C. A., & Stefanidou, M. E. (2025).** Zinc and its binding proteins: essential roles and therapeutic potential. *Archives of Toxicology*, 99(1), 23-41.
- Kistler, A., Liechti, H., Pichard, L., Wolz, E., Oesterhelt, G., Hayes, A., & Maurel, P. (2002).** Metabolism and CYP-inducer properties of astaxanthin in man and primary human hepatocytes. *Archives of toxicology*, 75(11-12), 665–675.
- Kobori, M., Takahashi, Y., Sakurai, M., Ni, Y., Chen, G., Nagashimada, M., ... & Ota, T. (2017).** Hepatic transcriptome profiles of mice with diet-induced non alcoholic steatohepatitis treated with astaxanthin and vitamin E. *International journal of molecular sciences*, 18(3), 593.
- Kohandel, Z., Farkhondeh, T., Aschner, M., Pourbagher-Shahri, A. M., & Samarghandian, S. (2022).** Anti-inflammatory action of astaxanthin and its use in the treatment of various diseases. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 145, 112179.
- Kosai, P., Sathavorasmith, P., Jiraungkoorskul, K., & Jiraungkoorskul, W. (2014).** Morphometric characters of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Thailand. *Walailak Journal of Science and Technology (WJST)*, 11(10), 857-863.
- Kuehu, D. L., Fu, Y., Nasu, M., Yang, H., Khadka, V. S., & Deng, Y. (2024).** Effects of Heat-Induced Oxidative Stress and Astaxanthin on the NF- κ B, NFE2L2 and PPAR α Transcription Factors and Cytoprotective Capacity in the Thymus of Broilers. *Current Issues in Molecular Biology*, 46(8), 9215-9233
- Kumar, S., Kumar, R., Diksha, Kumari, A., & Panwar, A. (2022).** Astaxanthin: A super antioxidant from microalgae and its therapeutic potential. *Journal of Basic Microbiology*, 62(9), 1064-1082.
- Kurniasih, T., Zulkarnain, R., Wijaya, R., Lesmana, D., Mumpuni, F. S., Panigoro, N., ... & Fitria, Y. (2024).** Digestibility of plant-based feeds in omnivorous, carnivorous, and herbivorous fish: a review of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758)), North African catfish (*Clarias gariepinus* (Burchell, 1822)), and grass carp (*Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes, 1844)). *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation*, 17(6), 2994-3014.
- Laamanen, S. E., Eloranta, A. M., Haapala, E. A., Sallinen, T., Schwab, U., & Lakka, T. A. (2024).** Associations of diet quality and food consumption with serum biomarkers for lipid and amino acid metabolism in Finnish children: the PANIC study. *European Journal of Nutrition*, 63(2), 623-637.

- Lagardère, F. 1971 (1972).** Les fonds de pêche de la côte ouest de l'Ile d'Oléron. Cartographie bionomique. III. Les peuplements benthiques, Téthys, 3 (3), pp. 507-538.
- Langi, P., Kiokias, S., Varzakas, T., & Proestos, C. (2018).** Carotenoids: From Plants to Food and Feed Industries. *Microbial Carotenoids*, 57–71.
- Lazard, J. (2007).** Le tilapia. Cirad, Paris France.
- Lee, J. B., Park, Y. H., Jeon, M. S., Kim, S., & Choi, Y. E. (2023).** Polyethylenimine linked with chitosan improves astaxanthin production in *Haematococcus pluvialis*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 107(2), 569-580.
- Lee, J. Y., Lee, J. S., & Sim, S. J. (2024).** Enhanced toxicity-free astaxanthin extraction from *Haematococcus pluvialis* via concurrent cell disruption and demulsification. *Bioresource technology*, 406, 130974.
- Lee, J., Kim, M. H., & Kim, H. (2022).** Anti-oxidant and anti-inflammatory effects of astaxanthin on gastrointestinal diseases. *International journal of molecular sciences*, 23(24), 15471.
- Leiva-Portilla, D., Martínez, R., & Bernal, C. (2023).** Valorization of shrimp (*Heterocarpus edii*) processing waste via enzymatic hydrolysis: Protein extractions, hydrolysates and antioxidant peptide fractions. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 48, 102625.
- Li, B., Chen, C., Zhou, X., Liu, H., Zhou, Z., Wang, X., ... & Liang, S. (2025).** Effectiveness of Astaxanthin as a Feed Supplement to Improve Growth Performance and Feed Utilization in Aquaculture Animals: A Meta-Analysis. *Antioxidants*, 14(5), 609.
- Li, B., Lee, J. Y., & Luo, Y. (2023).** Health benefits of astaxanthin and its encapsulation for improving bioavailability: A review. *Journal of Agriculture and Food Research*, 14, 100685.
- Li, H., Li, J., Hou, C., Li, J., Peng, H., & Wang, Q. (2020).** The effect of astaxanthin on inflammation in hyperosmolarity of experimental dry eye model in vitro and in vivo. *Experimental Eye Research*, 197, 108113.
- Li, M. Y., Liu, Y. Z., Chen, X. M., Niu, X. T., Chen, L., Zhao, L., & Wang, G. Q. (2025).** Astaxanthin ameliorates high-carbohydrate diet-induced ER stress, immunosuppression and hepatic glucose metabolism through AMPK/autophagy pathway in *Channa argus*. *Aquaculture*, 598, 742010.

- Li, M., Wu, W., Zhou, P., Xie, F., Zhou, Q., & Mai, K. (2014).** Comparison effect of dietary astaxanthin and *Haematococcus pluvialis* on growth performance, antioxidant status and immune response of large yellow croaker *Pseudosciaena crocea*. *Aquaculture*, 434, 227–232.
- Li, Y., Zhao, Y., Zhang, H., Ding, Z., & Han, J. (2024).** The application of natural carotenoids in multiple fields and their encapsulation technology: A review. *Molecules*, 29(5), 967.
- Lim, K. C., Yusoff, F. M., Shariff, M., & Kamarudin, M. S. (2019).** Dietary administration of astaxanthin improves feed utilization, growth performance and survival of Asian seabass, *Lates calcarifer* (Bloch, 1790). *Aquaculture Nutrition*, 25(6), 1410-1421
- Limam, Z., Arafa, S., Sadok, S., & El Abed, A. (2008).** Lipids and Fatty Acids Composition in the Tissues and By-Products of Two Tunisian Shrimp Species from the North and South Regions. *Nutrition and Health*, 19(3), 215–220.
- Liu, C., Hu, B., Cheng, Y., Guo, Y., Yao, W., & Qian, H. (2021).** Carotenoids from fungi and microalgae: A review on their recent production, extraction, and developments. *Bioresource Technology*, 337, 125398.
- López-Cervantes, J., Sánchez-Machado, D. I., Gutiérrez-Coronado, M. A., & Ríos-Vázquez, N. J. (2006).** Quantification of astaxanthin in shrimp waste hydrolysate by HPLC. *Biomedical chromatography*, 20(10), 981-984.
- Lotfi, A., Abroodi, Z., & Khazaei, M. (2024).** Biological activities of astaxanthin in the treatment of neurodegenerative diseases. *Neurodegenerative Disease Management*, 14(6), 241-256.
- Lovshin, L. L. (2000).** Criteria for selecting Nile tilapia and red tilapia for culture. *Tilapia Aquaculture in the 21st Century*. Rio de Janeiro, Brazil: American Tilapia Association and Departamento de Pesca e Aqüicultura.
- Lu, B., Ruan, B., Zhang, J., Zhang, J., & Liang, Y. (2025).** Potential Antioxidant and Anti-inflammatory Effects of Astaxanthin Ionic Liquid Liposomes. *ACS Applied Bio Materials*, 8(4), 3052-3060.
- Luna-Flores, C. H., Wang, A., von Hellens, J., & Speight, R. E. (2022).** Towards commercial levels of astaxanthin production in *Phaffia rhodozyma*. *Journal of Biotechnology*, 350, 42-54.
- Luo, F., Wang, S., Zhang, X., Liu, Z., Zhu, R., & Xue, W. (2024).** Extraction of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* and preparation of astaxanthin liposomes. *Molecules*, 29(14), 3320.

- Maas, R. M., Verdegem, M. C., Wiegertjes, G. F., & Schrama, J. W. (2020).** Carbohydrate utilisation by tilapia: a meta-analytical approach. *Reviews in Aquaculture*, 12(3), 1851-1866.
- Maharani, E. P., Briliana, H., Putri, E. H., Faraditta, F. S., & Az-zhaffirah, A. R. (2024).** A Comprehensive Review on Atomic Absorption Spectroscopy: Principles, Techniques, and Applications. *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*, 10(15), 20-29.
- Man, Y., Yin, R., Cai, K., Qin, C., Wang, J., Yan, H., & Li, M. (2019).** Primary aminoacids affect the distribution of methyl mercury rather than inorganic mercury among tissues of two farmed-raised fish species. *Chemosphere*, 225, 320-328.
- Mandeville, S., Yaylayan, V., & Simpson, B. K. (1992).** Proximate analysis, isolation and identification of amino acids and sugars from raw and cooked commercial shrimp waste. *Food Biotechnology*, 6(1), 51-64.
- Mao, X., Guo, N., Sun, J., & Xue, C. (2017).** Comprehensive utilization of shrimp waste based on biotechnological methods: A review. *Journal of Cleaner Production*, 143, 814-823.
- Martin, B., Skirtach, A. G., Boon, N., & De Troch, M. (2025).** Lipid Quantification and Determination of Astaxanthin Conjugation by Raman Microscopy on Individual Copepod Eggs. *Journal of Raman Spectroscopy*, 56(6), 472-480.
- Martín, J. F., Gudiña, E., & Barredo, J. L. (2008).** Conversion of β -carotene into astaxanthin: Two separate enzymes or a bifunctional hydroxylase-ketolase protein?. *Microbial Cell Factories*, 7(1), 3.
- Martinez-Porchas, M., Preciado-Álvarez, A., Vargas-Albores, F., Gracia-Valenzuela, M. H., Cicala, F., Martinez-Cordova, L. R., ... & Garibay-Valdez, E. (2023).** Microbiota plasticity in tilapia gut revealed by meta-analysis evaluating the effect of probiotics, prebiotics, and biofloc. *PeerJ*, 11, e16213.
- Mathew, G. M., Mathew, D. C., Sukumaran, R. K., Sindhu, R., Huang, C. C., Binod, P., ... & Pandey, A. (2020).** Sustainable and eco-friendly strategies for shrimp shell valorization. *Environmental Pollution*, 267, 115656.
- Mathew, S. (2022).** Bioactivities of astaxanthin from natural sources, augmenting its biomedical potential: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 125, 81-90.
- Maynou, F., & Cartes, J. E. (1997).** Field estimation of daily ration in deep-sea shrimp *Aristeus antennatus* (Crustacea: Decapoda) in the western Mediterranean. *Marine Ecology Progress Series*, 153, 191-196.

- Medoro, A., Intrieri, M., Passarella, D., Willcox, D. C., Davinelli, S., & Scapagnini, G. (2024).** Astaxanthin as a metabolic regulator of glucose and lipid homeostasis. *Journal of Functional Foods*, 112, 105937.
- Meng, X., Yang, F., Zhu, L., Zhan, L., Numasawa, T., & Deng, J. (2024).** Effects of different astaxanthin sources on fillet coloration and energy deposition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition*, 2024(1), 1664203.
- Meyer, F., Schmitt, I., Wendisch, V. F., & Henke, N. A. (2025).** Response surface-based media optimization for astaxanthin production in *Corynebacterium glutamicum*. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 13, 1516522.
- Mezzomo, N., & Ferreira, S. R. (2016).** Carotenoids functionality, sources, and processing by supercritical technology: a review. *Journal of chemistry*, 2016(1), 3164312.
- Miao, L., Chi, S., Wu, M., Liu, Z., & Li, Y. (2019).** Deregulation of phytoene- β -carotene synthase results in derepression of astaxanthin synthesis at high glucose concentration in *Phaffia rhodozyma* astaxanthin-overproducing strain MK19. *BMC microbiology*, 19(1), 133.
- Misawa, N. (Ed.). (2021).** Carotenoids: Biosynthetic and Biofunctional Approaches. biofunctional approaches (Vol. 1261). Singapore: Springer.
- Mittal, A., Patil, U., Singh, A., Gautam, A. R., & Benjakul, S. (2025).** Utilization of Shrimp Processing Waste: Value-Added Products and Applications. In *Shrimp Culture Technology: Farming, Health Management and Quality Assurance* (pp. 367-399). Singapore: Springer Nature Singapore.
- Mkaouer, S., & Kechaou, N. (2013).** Valorisation des écarts de triage de dattes par séchage pour l'obtention d'une poudre pour alimentation animale. *Environnement, Ingénierie & Développement*, 26-30.
- Moawad, R. K. (2005).** Quality enhancement and shelf-life extension of red shrimp (*Aristeus antennatus*) during iced storage. *Journal of Food and Dairy Sciences*, 30(10), 6095-6110.
- Mohamad, S. N., Noordin, W. M., Ismail, N. F., & Hamzah, A. Z. H. A. R. (2021).** Red hybrid tilapia (*Oreochromis spp.*) broodstock development programme in Malaysia: Status, challenges and prospects for future development. *Asian Fish. Sci*, 34(1), 73-81.
- Mohanty, B. P., Mahanty, A., Ganguly, S., Mitra, T., Karunakaran, D., & Anandan, R. (2019).** Nutritional composition of foodfishes and their importance in providing food and nutritional security. *Food chemistry*, 293, 561-570.

- MohdFaudzi, N., Baru, D. D., Ching, F. F., & Senoo, S. (2024).** Enhancement of growth performance and body coloration through the inclusion of torch ginger powder in the feed of red tilapia (*Oreochromis sp.*). *Malaysian Applied Biology*, 53(1), 105–112.
- Mojekwu, T. O., & Hoareau, T. (2024).** Mozambique Tilapia *Oreochromis mossambicus* (Peters 1852) and the threat from *Oreochromis niloticus* (Linnaeus 1758) in South Africa: A review. *Agriculture, Food, and Natural Resources Journal*, 3(1), 88-100.
- Mojiri-Forushani, H. (2024).** Beneficial Effects of Astaxanthin on Health: A Natural Bioactive Carotenoid. *Shiraz E-Medical Journal*, 25(4).
- Moraes, P. S., Engelmann, J. I., Igansi, A. V., Sant'Anna Cadaval Jr, T. R., & Antonio de Almeida Pinto, L. (2021).** Nile tilapia industrialization waste: Evaluation of the yield, quality and cost of the biodiesel production process. *Journal of Cleaner Production*, 287, 125041.
- Moreno-Sánchez, R., Marín-Hernández, Á., Gallardo-Pérez, J. C., Vázquez, C., Rodríguez-Enríquez, S., & Saavedra, E. (2018).** Control of the NADPH supply and GSH recycling for oxidative stress management in hepatoma and liver mitochondria. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1859(10), 1138-1150.
- MOUFFOK, S. (2008).** Eléments d'approche sur la reproduction, la croissance, la répartition, et la pêche de la crevette rouge: *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) de la frange côtière Oranaise. Thèse de doctorat. Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella.
- Mussagy, C. U., & Dufossé, L. (2023).** A review of natural astaxanthin production in a circular bioeconomy context using *Paracoccus carotinifaciens*. *Bioresource Technology*, 369, 128499.
- Mussagy, C. U., Silva, P. G., Amantino, C. F., Burkert, J. F., Primo, F. L., Pessoa Jr, A., & Santos-Ebinuma, V. C. (2022).** Production of natural astaxanthin by *Phaffia rhodozyma* and its potential application in textile dyeing. *Biochemical Engineering Journal*, 187, 108658.
- Myint, A. A., Wulandari, S., Choi, J., Sim, S. J., & Kim, J. (2023).** High-yield dimethyl ether-based recovery of astaxanthin and fatty acids directly from wet *Haematococcus pluvialis*. *Separation and Purification Technology*, 320, 124226.
- Nakagawa, K., Kiko, T., Miyazawa, T., Burdeos, G. C., Kimura, F., Satoh, A., & Miyazawa, T. (2011).** Antioxidant effect of astaxanthin on phospholipid peroxidation in human erythrocytes. *British Journal of Nutrition*, 105(11), 1563-1571.
- Nakano, T., & Wiegertjes, G. (2020).** Properties of carotenoids in fish fitness: a review. *Marine drugs*, 18(11), 568.

- Nargis, A., Ahmed, K. N., Ahmed, G. M., Hossain, M. A., & Rahman, M. (2006).** Nutritional value and use of shrimp head waste as fish meal. *Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research*, 41(1), 63-66.
- Natália, M. & Sandra, R.S.F. 2016.** Carotenoids functionality, sources, and processing by supercritical technology: A Review. *Journal of Chemistry*, 2016: 3164312.
- Nguyen, L. Q., Everts, H., & Beynen, A. C. (2003).** Shrimp by-product feeding and growth performance of growing pigs kept on small holdings in central Vietnam. *Asian-australasian journal of animal sciences*, 16(7), 1025-1029.
- Nguyen, T. D., Khanal, S., Lee, E., Choi, J., Bohara, G., Rimal, N., ... & Park, S. (2025).** Astaxanthin-loaded brain-permeable liposomes for Parkinson's disease treatment via antioxidant and anti-inflammatory responses. *Journal of Nanobiotechnology*, 23(1), 78.
- Nguyen, T. T., Barber, A. R., Corbin, K., & Zhang, W. (2017).** Lobster processing by-products as valuable bioresource of marine functional ingredients, nutraceuticals, and pharmaceuticals. *Bioresources and Bioprocessing*, 4(1), 27.
- Nicholson, P., Rawiwan, P., & Surachetpong, W. (2018).** Detection of Tilapia lake virus using conventional RT-PCR and SYBR green RT-qPCR. *Journal of Visualized Experiments*, 141, e58596.
- Nirmal, N. P., Santivarangkna, C., Rajput, M. S., & Benjakul, S. (2020).** Trends in shrimp processing waste utilization: An industrial prospective. *Trends in Food Science & Technology*, 103, 20-35.
- Nirmal, N., Benjakul, S., & Bono, G. (Eds.). (2024).** Postharvest Technologies and Quality Control of Shrimp. Elsevier.
- Nishida, Y., Berg, P. C., Shakersain, B., Hecht, K., Takikawa, A., Tao, R., Kakuta, Y., Uragami, C., Hashimoto, H., Misawa, N., & Maoka, T. (2023).** Astaxanthin: Past, Present, and Future. *Marine drugs*, 21(10), 514.
- Noël P., 2015.** La crevette rouge *Aristeus antennatus* (Risso, 1816). in *Muséum national d'Histoire naturelle [Ed.]*, 18 juin 2015. Inventaire national du Patrimoine naturel, pp. 1-6.
- Nouar, A. (2001).** Bio-écologie de *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) et de *Parapenaeus longirostris* (Lucas, 1846) des côtes algériennes. *Rapp. Comm. int. Mer Médit*, 36, 304.

- Nouar, A., Kennouche, H., & Cartes, N. A. J. E. (2011).** Temporal changes in the diet of deep-water Penaeoidean shrimp (*Parapenaeus longirostris* and *Aristeus antennatus*) off Algeria (Southwestern Mediterranean). *Scientia Marina* (Barcelona), 75(2), 279-288.
- Nuntapong, N., Phromkunthong, W., Suanyuk, N., & Corlay, D. (2022).** Natural pigment from *Paracoccus carotinifaciens* (Panaferd®-AX) enhanced colour and immune system of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture Research*, 53(17), 5925-5936.
- Nutakor, C., Kanwugu, O. N., Kovaleva, E. G., & Glukhareva, T. V. (2022).** Enhancing astaxanthin yield in *Phaffia rhodozyma*: current trends and potential of phytohormones. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106(9), 3531-3538.
- Nwachi, O. F., Esa, Y. B., Christianus, A., Rahim, A. A., & Kamarudin, M. S. (2020).** Patterns of colour inheritance from crossbreeding between Red hybrid tilapia (*Oreochromis* sp.) and GIFT tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Environmental Biology*, 41, 1289-1294.
- Odeberg, J. M., Lignell, Å., Pettersson, A., & Höglund, P. (2003).** Oral bioavailability of the antioxidant astaxanthin in humans is enhanced by incorporation of lipid based formulations. *European journal of pharmaceutical sciences*, 19(4), 299-304.
- Ohno, M., Darwish, W. S., Ikenaka, Y., Miki, W., & Ishizuka, M. (2011).** Astaxanthin can alter CYP1A-dependent activities via two different mechanisms: induction of protein expression and inhibition of NADPH P450 reductase dependent electron transfer. *Food and Chemical Toxicology*, 49(6), 1285-1291.
- Oksuz, A., Ozyilmaz, A., Aktas, M., Gercek, G., & Motte, J. (2009).** A comparative study on proximate, mineral and fatty acid compositions of deep seawater rose shrimp (*Parapenaeus longirostris*, Lucas 1846) and red shrimp (*Plesionika martia*, A. Milne-Edwards, 1883). *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8(1), 183-189.
- Olgunoglu, M. P. (2015).** Heavy metal contents in muscle tissues of three deep-seawater Mediterranean shrimp species (*Plesionika martia*, *Plesionika edwardsii*, *Aristeus antennatus*). *Polish Journal of Environmental Studies*, 24(6), 2553-2557.
- Olopade, O. A., Taiwo, I. O., Lamidi, A. A., & Awonaike, O. A. (2016).** Proximate composition of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) (Linnaeus, 1758) and tilapia hybrid (red tilapia) from Oyan Lake, Nigeria. *Bulletin UASVM Food Science and Technology*, 73(1), 19-23.

- Oluwaniyi, O. O., Dosumu, O. O., & Awolola, G. V. (2010).** Effect of local processing methods (boiling, frying and roasting) on the amino acid composition of four marine fishes commonly consumed in Nigeria. *Food chemistry*, 123(4), 1000-1006.
- Osibona, A. O., Kusemiju, K., & Akande, G. R. (2009).** Fatty acid composition and amino acid profile of two freshwater species, African catfish (*Clarias gariepinus*) and tilapia (*Tilapia zillii*). *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 9(1), 608-621.
- Oslan, S. N. H., Tan, J. S., Oslan, S. N., Matanjun, P., Mokhtar, R. A. M., Shapawi, R., & Huda, N. (2021).** *Haematococcus pluvialis* as a potential source of astaxanthin with diverse applications in industrial sectors: current research and future directions. *Molecules*, 26(21), 6470.
- Ou, W., Guo, Z., Pan, Y., Huang, K., Ma, Y., & Qin, Z. (2024).** Advances in the effects of dietary macronutrients on the gut microbiota of tilapia (*Oreochromis spp.*). *Microorganisms*, 12(3), 543.
- Oudainia, S. E., Derbal, F., Alik, O., & Bourehail, N. (2023).** Seasonal and sexual variations of trace-metal elements (Cd, Pb, Cu, Zn, Fe) in muscle and eggs of the deep-water Pandalid Shrimp *Plesionika edwardsii* (Brandt 1851) from Northeast Algeria. *Thalassas: An International Journal of Marine Sciences*, 39(1), 263-271.
- Oyaizu, M. (1986).** Antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn. J. Nutr.*, 44, 307-315.
- Páez-Osuna, F., & Tron-Mayen, L. (1996).** Concentration and distribution of heavy metals in tissues of wild and farmed shrimp *Penaeus vannamei* from the northwest coast of Mexico. *Environment International*, 22(4), 443–450.
- Panagiotakopoulos, I., & Nasopoulou, C. (2024).** Extraction Methods, Encapsulation Techniques, and Health Benefits of Astaxanthin. *Sustainability*, 16(24), 10859.
- Panigoro, N., Kurniasih, T., Wahyudin, Y., Lesmana, D., Sutisna, E., Pantjara, B., ... & Dody, S. (2024).** Optimizing red tilapia (*Oreochromis sp.*) aquaculture in peatlands: evaluating dietary methionine and lysine for growth performance and feed utilization. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation*, 17(6), 2792-2804.
- Parjikolaei, B. R., El-Houri, R. B., Fretté, X. C., & Christensen, K. V. (2015).** Influence of green solvent extraction on carotenoid yield from shrimp (*Pandalus borealis*) processing waste. *Journal of Food Engineering*, 155, 22-28.

- Park, J. S., Chyun, J. H., Kim, Y. K., Line, L. L., & Chew, B. P. (2010).** Astaxanthin decreased oxidative stress and inflammation and enhanced immune response in humans. *Nutrition & metabolism*, 7(1), 18.
- Pashkow, F. J., Watumull, D. G., & Campbell, C. L. (2008).** Astaxanthin: a novel potential treatment for oxidative stress and inflammation in cardiovascular disease. *The American journal of cardiology*, 101(10), S58-S68.
- Patil, A. D., Kasabe, P. J., & Dandge, P. B. (2022).** Pharmaceutical and nutraceutical potential of natural bioactive pigment: astaxanthin. *Natural products and bioprospecting*, 12(1), 25.
- Paz, A. V. C., Rigano, F., Cafarella, C., Tropea, A., Mondello, L., Galan, J. P. M., ... & Mussagy, C. U. (2024).** Process intensification of ultrasound assisted deep eutectic solvent-based extraction of astaxanthin-rich extract derived from the non-conventional bacterium *Paracoccus carotinifaciens*. *Separation and Purification Technology*, 339, 126674.
- Pei, H., Bao, K., Ye, Y., Song, Y., Liu, P., Han, Y., & Cao, X. (2025).** Development of a ready-to-use astaxanthin esters extract from *Haematococcus pluvialis* using hydrophobic NADES: Optimization, mechanistic insights, and stability evaluation. *Microchemical Journal*, 209, 112794.
- Peng, L., Zhang, Z., Li, Q., & Yang, H. (2025).** Current Challenges and Issues in the Application of Astaxanthin. *Fishes*, 10(4), 159.
- Pereira, C. P. M., Souza, A. C. R., Vasconcelos, A. R., & Prado, P. S. (2021).** Antioxidant and anti-inflammatory mechanisms of action of astaxanthin in cardiovascular diseases. *International journal of molecular medicine*, 47(1), 37-48.
- Peters, J., Combs, S., Hoskins, B., Jarman, J., Kovar, J., Watson, M., ... & Wolf, N. (2003).** Recommended methods of manure analysis. University of Wisconsin Cooperative Extension Publishing: Madison, WI.
- Polakof, S., Panserat, S., Soengas, J. L., & Moon, T. W. (2012).** Glucose metabolism in fish: a review. *Journal of Comparative Physiology B*, 182(8), 1015-1045.
- Polamraju, S. M., Manochkumar, J., Ganeshbabu, M., & Ramamoorthy, S. (2025).** Unveiling astaxanthin: biotechnological advances, delivery systems and versatile applications in nutraceuticals and cosmetics. *Archives of Microbiology*, 207(2), 45.

- Pujari, N. & Pandharipande, S. L. (2016).** Review on synthesis, characterisation and bioactivity of chitosan. *International Journal of Engineering Sciences & Research Technology (IJESRT)*, 5(10), 334–344.
- Qin, K., Li, S., Wu, S., & Dou, H. (2024).** Dietary astaxanthin supplementation improves the growth performance, immune response, and immunity-related gene expression of sea cucumber (*Apostichopus japonicas*). *Aquaculture International*, 32(2), 1235-1246.
- Quero, J. C., Spitz, J., & Vayne, J. J. (2001).** Observations ichtyologiques effectuées en 2001. In *Annales de la Société des sciences naturelles de la Charente-Maritime*, 9(2), 179-186.
- Rahman, M. M., Khosravi, S., Chang, K. H., & Lee, S. M. (2016).** Effects of dietary inclusion of astaxanthin on growth, muscle pigmentation and antioxidant capacity of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Preventive nutrition and food science*, 21(3), 281.
- Rajamohan, R., Muthuraja, P., Murugavel, K., Mani, M. K., Prabakaran, D. S., Seo, J. H., ... & Lee, Y. R. (2025).** Significantly improving the solubility and anti-inflammatory activity of fenofibric acid with native and methyl-substituted beta-cyclodextrins via complexation. *Scientific Reports*, 15(1), 1-17.
- Ramírez, J., Gutierrez, H., & Gschaedler, A. (2001).** Optimization of astaxanthin production by *Phaffia rhodozyma* through factorial design and response surface methodology. *Journal of Biotechnology*, 88(3), 259-268.
- Ramírez, J., Obledo, N., Arellano, M., & Herrera, E. (2006).** Astaxanthin production by *Phaffia rhodozyma* in a fed-batch culture using a low cost medium feeding. *e-Gnosis*, (4).
- Ramos-Hernández, R., González-Díaz, F., Salas-Téllez, E., Sordo, M., Salazar, A. M., Ostrosky-Wegman, P., ... & Vázquez-Durán, A. (2025).** Within and Beyond the MIC: Unveiling the Antifungal Potency of Green-Synthesized Silver Nanoparticles Against Clinical Isolates of *Candida albicans*. *BioNano Science*, 15(3), 407.
- 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.
- Rao, A. R., Sarada, R., & Ravishankar, G. A. (2007).** Stabilization of astaxanthin in edible oils and its use as an antioxidant. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(6), 957-965.

- Rasoarahona, J. R. E., Barnathan, G., Bianchini, J.-P., & Gaydou, E. M. (2005).** Influence of season on the lipid content and fatty acid profiles of three tilapia species (*Oreochromis niloticus*, *O. macrochir* and *Tilapia rendalli*) from Madagascar. *Food Chemistry*, 91(4), 683–694.
- Ravichandran, S., Rameshkumar, G., & Prince, A. R. (2009).** Biochemical Composition of shell and flesh of the Indian white shrimp *Penaeus indicus* (H. milne Edwards 1837). *American-Eurasian Journal of Scientific Research*, 4, 191–194.
- Raza, S. H. A., Naqvi, S. R. Z., Abdelnour, S. A., Schreurs, N., Mohammedsaleh, Z. M., Khan, I., ... & Zan, L. (2021).** Beneficial effects and health benefits of Astaxanthin molecules on animal production: A review. *Research in Veterinary Science*, 138, 69-78.
- Rebelo, B. A., Farrona, S., Ventura, M. R., & Abranches, R. (2020).** Canthaxanthin, a red-hot carotenoid: applications, synthesis, and biosynthetic evolution. *Plants*, 9(8), 1039.
- Reyhani Poul, S., & Yeganeh, S. (2023).** Nanoencapsulation of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* using maltodextrin-sodium caseinate coating and evaluation of antioxidant and antibacterial activities of the carrier nanocapsules. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*, 20(140), 52-65.
- Riofrio, A., Alcivar, T., & Baykara, H. (2021).** Environmental and economic viability of chitosan production in Guayas-Ecuador: a robust investment and life cycle analysis. *ACS omega*, 6(36), 23038-23051.
- Rivera-Hernández, G., Roether, J. A., Aquino, C., Boccaccini, A. R., & Sánchez, M. L. (2025).** Delivery systems for astaxanthin: A review on approaches for in situ dosage in the treatment of inflammation associated diseases. *International Journal of Pharmaceutics*, 669, 125017.
- Roberti, A., Chaffey, L. E., & Greaves, D. R. (2022).** NF-κB signaling and inflammation—drugs purposing to treat inflammatory disorders?. *Biology*, 11(3), 372.
- Rødde, R. H., Einbu, A., & Vårum, K. M. (2008).** A seasonal study of the chemical composition and chitin quality of shrimp shells obtained from northern shrimp (*Pandalus borealis*). *Carbohydrate polymers*, 71(3), 388-393.
- Rodríguez, M. G. (2003).** Characterisation and standardisation of a red shrimp *Aristeus antennatus*, (Risso, 1816) fishery off the Alicante gulf (SE Spain). *Scientia Marina*, 67(1), 63-74.

- Rosa, R., & Nunes, M. L. (2003).** Tissue biochemical composition in relation to the reproductive cycle of deep-sea decapod *Aristeus antennatus* in the Portuguese south coast. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, 83(5), 963–970.
- Rosa, R., & Nunes, M. L. (2004).** Nutritional quality of red shrimp, *Aristeus antennatus* (Risso), pink shrimp, *Parapenaeus longirostris* (Lucas), and Norway lobster, *Nephrops norvegicus* (Linnaeus). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(1), 89-94.
- Rossi, N., Grosso, C., & Delerue-Matos, C. (2024).** Shrimp waste upcycling: unveiling the potential of polysaccharides, proteins, carotenoids, and fatty acids with emphasis on extraction techniques and bioactive properties. *Marine Drugs*, 22(4), 153.
- Rudi, L., Plîngău, E., & Mîscu, V. (2024).** *Haematococcus pluvialis* derived astaxanthin—a powerful bio-active compound for vegetable oils. *One Health and Risk Management*, (4), 4-12.
- Sachindra, N. M., & Bhaskar, N. (2008).** In vitro antioxidant activity of liquor from fermented shrimp biowaste. *Bioresource technology*, 99(18), 9013-9016.
- Sachindra, N. M., & Mahendrakar, N. S. (2005).** Process optimization for extraction of carotenoids from shrimp waste with vegetable oils. *Bioresource Technology*, 96(10), 1195-1200.
- Sachindra, N. M., Bhaskar, N., & Mahendrakar, N. S. (2005).** Carotenoids in different body components of Indian shrimps. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(1), 167-172.
- Sachindra, N. M., Bhaskar, N., & Mahendrakar, N. S. (2006).** Recovery of carotenoids from shrimp waste in organic solvents. *Waste Management*, 26(10), 1092-1098.
- Saini, R. K., Song, M. H., Rengasamy, K. R., Ko, E. Y., & Keum, Y. S. (2020).** Red shrimp are a rich source of nutritionally vital lipophilic compounds: A comparative study among edible flesh and processing waste. *Foods*, 9(9), 1179.
- Sakaguchi, R., Ghosh, A., Sawada, Y., Takahama, K., Nishida, Y., & Honda, M. (2024).** Thermal isomerization of astaxanthin esters in the green alga *Haematococcus lacustris* without any chemicals. *Food Bioscience*, 61, 104645.
- Salazar-Gonzalez, C., Díaz-Moreno, C., & Fuenmayor, C. A. (2019).** Green extraction of carotenoids from bee pollen using sunflower oil: evaluation of time and matrix-solvent ratio. *Chem Eng*, 75, 541-546.

- Samuel, S. Y., Wang, H. M. D., Huang, M. Y., Cheng, Y. S., Chen, J. R., Li, W. H., & Chang, J. J. (2022).** Safety Assessment of 3S, 3'S astaxanthin derived from metabolically engineered *K. marxianus*. *Antioxidants*, 11(11), 2288.
- Sánchez-Camargo, A. P., Meireles, M. Â. A., Lopes, B. L. F., & Cabral, F. A. (2011).** Proximate composition and extraction of carotenoids and lipids from Brazilian red spotted shrimp waste (*Farfantepenaeus paulensis*). *Journal of Food Engineering*, 102(1), 87-93.
- Santos, C. A. D., Padilha, C. E., Damasceno, K. S., Leite, P. I., Araújo, A. C. D., Freitas, P. R., ... & Assis, C. F. D. (2021).** Astaxanthin recovery from shrimp residue by solvent ethanol extraction using choline chloride: Glycerol deep eutectic solvent as adjuvant. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 32(5), 1030-1039.
- Sapone, V., Iannone, A., Cicci, A., Bonfanti, D., & Bravi, M. (2021).** Astaxanthin extraction from *Paracoccus carotinifaciens* employing fatty acid based natural deep eutectic solvents. *Chemical Engineering Transactions*, 87, 463-468.
- Saravanan, A., Kumar, P. S., Yuvaraj, D., Jeevanantham, S., Aishwaria, P., Gnanasri, P. B., ... & Rangasamy, G. (2023).** A review on extraction of polysaccharides from crustacean wastes and their environmental applications. *Environmental Research*, 221, 115306.
- Sardà, F., Roldán, M. I., Heras, S., & Maltagliati, F. (2010).** Influence of the genetic structure of the red and blue shrimp, *Aristeus antennatus* (Risso, 1816), on the sustainability of a deep-sea population along a depth gradient in the western Mediterranean.
- Sarkar, T., Alam, M. M., Parvin, N., Fardous, Z., Chowdhury, A. Z., Hossain, S., ... & Biswas, N. (2016).** Assessment of heavy metals contamination and human health risk in shrimp collected from different farms and rivers at Khulna-Satkhira region, Bangladesh. *Toxicology reports*, 3, 346-350.
- Sarker, M., Chowdhury, N., Bristy, A. T., Emran, T., Karim, R., Ahmed, R., ... & Reza, H. M. (2024).** Astaxanthin protects fludrocortisone acetate-induced cardiac injury by attenuating oxidative stress, fibrosis, and inflammation through TGF- β /Smad signaling pathway. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 181, 117703.
- Sathishkumar, G., Felix, N., & Prabu, E. (2021).** Growth performances and nutrient utilization efficiency of GIFT tilapia reared in floating net cages fed with bioprocessed silkworm pupae meal. *Aquaculture Nutrition*, 27(6), 2786-2797.

- Satoh, T. (2016).** Astaxanthin: health benefits and toxicity. In *Nutraceuticals*, 531-539. Academic Press.
- Seabra, L. M. J., & Pedrosa, L. F. C. (2010).** Astaxanthin: structural and functional aspects. *Revista de Nutrição*, 23(6), 1041–1050.
- Seeger, J., Wendisch, V. F., & Henke, N. A. (2023).** Extraction and purification of highly active astaxanthin from *Corynebacterium glutamicum* fermentation broth. *Marine Drugs*, 21(10), 530.
- Semenova, Y., Bjørklund, G., Butnariu, M., & Peana, M. (2024).** Iron-related biomarkers in the diagnosis and management of iron disorders. *Current Medicinal Chemistry*, 31(27), 4233-4248.
- Senphan, T., & Benjakul, S. (2012).** Compositions and yield of lipids extracted from hepatopancreas of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) as affected by prior autolysis. *Food Chemistry*, 134(2), 829-835.
- Senthamil, L., & Kumaresan, R. (2015).** Extraction and identification of astaxanthin from shrimp waste. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*, 3(3), 192.
- Septinova, D., Kurtini, T., & Tantalo, S. (2010).** Evaluation the usage of treated shrimp waste as protein source in broiler diet. *Animal Production*, 12(1).
- Shabanzadeh, S., Vatandoust, S., Hosseinifard, S. M., Sheikhzadeh, N., & Shahbazfar, A. A. (2023, February).** Dietary astaxanthin (Lucantin® Pink) mitigated oxidative stress induced by diazinon in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). In *Veterinary Research Forum*, 14(2), 7.
- Shahsavani, A., Fakhri, Y., Ferrante, M., Keramati, H., Zandsalimi, Y., Bay, A., ... & Mousavi Khaneghah, A. (2017).** Risk assessment of heavy metals bioaccumulation: fished shrimps from the Persian Gulf. *Toxin reviews*, 36(4), 322-330.
- Shastak, Y., & Pelletier, W. (2023).** Captivating colors, crucial roles: Astaxanthin's antioxidant impact on fish oxidative stress and reproductive performance. *Animals*, 13(21), 3357.
- Shokrian Zeini, M., Pakraves, S. M., Kolour, S. M. J., Soghala, S., Dabbagh Ohadi, M. A., Ghanbar Ali Akhavan, H., ... & Samarghandian, S. (2025).** Astaxanthin as an anticancer agent against breast cancer: an *in vivo* and *in vitro* investigation. *Current Medicinal Chemistry*, 32(13), 2598-2607.
- Si, P., & Zhu, C. (2022).** Biological and neurological activities of astaxanthin. *Molecular medicine reports*, 26(4), 1-12.

- Siddiqui, A. Q., Howlader, M. S., & Adam, A. A. (1988).** Effects of dietary protein levels on growth, feed conversion and protein utilization in fry and young Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 70(1-2), 63–73.
- Silva, D. M. E., Damasceno, K. S. C., Ribeiro, P. P. C., Alcântara, M. A., Cordeiro, A. M. M., Passos, T. S., ... & Assis, C. F. D. (2021).** Chemical characteristics and antioxidant activity of astaxanthin extracted from shrimp residues using soybean oil. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 32(6), 1277-1285.
- Šimat, V., Rathod, N. B., Čagalj, M., Hamed, I., & Generalić Mekinić, I. (2022).** Astaxanthin from crustaceans and their byproducts: a bioactive metabolite candidate for therapeutic application. *Marine Drugs*, 20(3), 206.
- Sindhu, S., & Sherief, P. (2011).** Extraction, characterization, antioxidant and anti-inflammatory properties of carotenoids from the shell waste of arabian red shrimp *Aristeus alcocki*, ramadan 1938. *Open Conf. Proc. J*, 2, 95–103.
- Singh, V., Jha, K. T., Singh, S., Singh, R., & Chawla, P. A. (2025).** Targeting inflammation through inhibition of COX-2 by substituted 4-thiazolidinone analogues: *in-vitro*, *in-vivo* and *in-silico* studies. *Journal of Molecular Structure*, 1319, 139393.
- Situmorang, M. L., Dierckens, K., Mlingi, F. T., Van Delsen, B., & Bossier, P. (2014).** Development of a bacterial challenge test for gnotobiotic Nile tilapia *Oreochromis niloticus* larvae. *Diseases of aquatic organisms*, 109(1), 23-33.
- Snell, T. W., & Carberry, J. (2022).** Astaxanthin bioactivity is determined by stereoisomer composition and extraction method. *Nutrients*, 14(7), 1522.
- Song, G., Zhao, Y., Lu, J., Liu, Z., Quan, J., & Zhu, L. (2023).** Effects of astaxanthin on growth performance, gut structure, and intestinal microorganisms of *Penaeus vannamei* under microcystin-LR stress. *Animals*, 14(1), 58.
- Song, X., Wang, L., Li, X., Chen, Z., Liang, G., & Leng, X. (2017).** Dietary astaxanthin improved the body pigmentation and antioxidant function, but not the growth of discus fish (*Symphysodon spp.*). *Aquaculture Research*, 48(4), 1359-1367.
- Stachowiak, B., & Szulc, P. (2021).** Astaxanthin for the food industry. *Molecules*, 26(9), 2666.
- Su, F., Huang, B., & Liu, J. (2018).** The carotenoids of shrimps (Decapoda: *Caridea* and *Dendrobranchiata*) cultured in China. *Journal of Crustacean Biology*, 38(5), 523-530.

- Suganya, V., Anuradha, V., Ali, M. S., Sangeetha, P., & Bhuvana, P. (2017).** *In vitro* anti-diabetic activity of microencapsulated and non-encapsulated Astaxanthin. *Int J CurrPharmRes*, 9(5), 90-96.
- Sulieman, H. A., & James, G. K. (2011).** A comparative studies on the chemical and physical attributes of wild farmed Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Online Journal of Animal and Feed Research*, 1(6), 407-411.
- Sun, J., Yan, J., Dong, H., Gao, K., Yu, K., He, C., & Mao, X. (2023).** Astaxanthin with different configurations: sources, activity, post modification, and application in foods. *Current Opinion in Food Science*, 49, 100955.
- Sun, S. Q., Zhao, Y. X., Li, S. Y., Qiang, J. W., & Ji, Y. Z. (2020).** Anti-tumor effects of astaxanthin by inhibition of the expression of STAT3 in prostate cancer. *Marine Drugs*, 18(8), 415.
- Sun, S., Gao, Y., Chen, J., & Liu, R. (2022).** Identification and release kinetics of peptides from tilapia skin collagen during alcalase hydrolysis. *Food Chemistry*, 378, 132089.
- Suresh, A. S., Jaya, D. S., & Sherly Williams, E. (2024).** Evaluation of nutritional status and heavy metal contamination in selected indigenous fish species from Kollam harbour, south west coast of India. *International Journal of Development Research Vol. 14, Issue, 02*, pp. 64999-65003
- Swastawati, F. (2018).** The changes of astaxanthin content and chemical characteristics of tiger prawn (*Penaeus monodon*) due to processing: boiling, smoking and frying. *International Journal of Development Research*, 14, (02), 64999-65003.
- Sztretye, M., Dienes, B., Gönczi, M., Czirják, T., Csernoch, L., Dux, L., ... & Keller-Pintér, A. (2019).** Astaxanthin: A potential mitochondrial-targeted antioxidant treatment in diseases and with aging. *Oxidative Medicine and cellular longevity*, 2019(1), 3849692.
- Taghiyar, S., Pourrajab, F., & Aarabi, M. H. (2023).** Astaxanthin improves fatty acid dysregulation in diabetes by controlling the AMPK-SIRT1 pathway. *Excli Journal*, 22, 502.
- Takeuchi, T., Lu, J. U. N., Yoshizaki, G., & Satoh, S. (2002).** Effect on the growth and body composition of juvenile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Fisheries science*, 68(1), 34-40.
- Talab, A. S., Goher, M. E., Ghannam, H. E., & Abdo, M. H. (2016).** Chemical compositions and heavy metal contents of *Oreochromis niloticus* from the main irrigated canals (rayahs) of Nile Delta. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 42(1), 23-31.

- Tejera, N., Cejas, J. R., Rodríguez, C., Bjerkeng, B., Jerez, S., Bolaños, A., & Lorenzo, A. (2007).** Pigmentation, carotenoids, lipid peroxides and lipid composition of skin of red porgy (*Pagrus pagrus*) fed diets supplemented with different astaxanthin sources. *Aquaculture*, 270(1-4), 218-230.
- Teramukai, K., Kakui, S., Beppu, F., Hosokawa, M., & Miyashita, K. (2020).** Effective extraction of carotenoids from brown seaweeds and vegetable leaves with edible oils. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 60, 102302.
- Tesfaye, A., Fetahi, T., & Getahun, A. (2020).** Food and feeding habits of juvenile and adult Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) (Pisces: Cichlidae) in Lake Ziway, Ethiopia. *SINET: Ethiopian Journal of Science*, 43(2), 88-96.
- Tetteh, J. N., Matthäus, F., & Hernandez-Vargas, E. A. (2020).** A survey of within-host and between-hosts modelling for antibiotic resistance. *Biosystems*, 196, 104182.
- Tkaczewska, J., Kulawik, P., Jamróz, E., Čagalj, M., Matas, R. F., & Šimat, V. (2024).** Valorisation of prawn/shrimp shell waste through the production of biologically active components for functional food purposes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 104(2), 707-715.
- Tran, D. V., Dang, T. T., Cao, T. T., Hua, N. T., & Pham, H. Q. (2022).** Natural astaxanthin extracted from shrimp waste for pigment improvement in the Orange clownfish, *Amphiprion percula*. *Aquaculture Research*, 53(11), 4190-4198.
- Trung, T. S., & Phuong, P. T. D. (2012).** Bioactive compounds from by-products of shrimp processing industry in Vietnam. *Journal of Food and Drug Analysis*, 20(1), 64.
- Tsai, M. C., Huang, S. C., Chang, W. T., Chen, S. C., & Hsu, C. L. (2020).** Effect of Astaxanthin on the Inhibition of Lipid Accumulation in 3T3-L1 Adipocytes via Modulation of Lipogenesis and Fatty Acid Transport Pathways. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(16), 3598.
- Tsiaka, T., Zoumpoulakis, P., Sinanoglou, V. J., Makris, C., Heropoulos, G. A., & Calokerinos, A. C. (2015).** Response surface methodology toward the optimization of high-energy carotenoid extraction from *Aristeus antennatus* shrimp. *Analytica chimica acta*, 877, 100-110.
- Twibell, R. G., & Brown, P. B. (1998).** Optimal Dietary Protein Concentration for Hybrid Tilapia *Oreochromis niloticus* × *O. aureus* Fed All-Plant Diets. *Journal of the World Aquaculture Society*, 29(1), 9–16.

- Utomo, N. P., Pinzon, R. T., Latumahina, P. K., & Damayanti, K. R. S. (2024).** Astaxanthin and improvement of dementia: A systematic review of current clinical trials. *Cerebral circulation-cognition and behavior*, 7, 100226.
- Vajargah, M. F. (2021).** A review of the physiology and biology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Aquaculture & Marine Biology*, 10(5), 244-246.
- Van Nguyen, L., & Shahidi, F. (2025).** Fatty Acid Distribution and Oxidative Stability of DHA/EPA-Enriched Structured Lipids From Virgin Coconut Oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 102(9), 1439-1452.
- Venkatesan, J., Anil, S., Kim, S. K., & Shim, M. S. (2017).** Marine fish proteins and peptides for cosmeceuticals: A review. *Marine drugs*, 15(5), 143.
- Venugopal, V. (2008).** Marine products for healthcare: functional and bioactive nutraceutical compounds from the ocean. CRC Press Taylor & Francis Group: Boca Raton, FL, USA; ISBN 978-1-4200-5263-3.
- Visioli, F., & Artaria, C. (2017).** Astaxanthin in cardiovascular health and disease: mechanisms of action, therapeutic merits, and knowledge gaps. *Food & function*, 8(1), 39-63.
- Vissio, P. G., Darias, M. J., Di Yorio, M. P., Sirkin, D. I. P., & Delgadín, T. H. (2021).** Fish skin pigmentation in aquaculture: The influence of rearing conditions and its neuroendocrine regulation. *General and Comparative Endocrinology*, 301, 113662.
- Wang, Y., Wang, J., Yang, S., Liang, Q., Gu, Z., Wang, Y., ... & Sun, H. (2024).** Selecting a preculture strategy for improving biomass and astaxanthin productivity of *Chromochloris zofingiensis*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 108(1), 117.
- Watanabe, W. O., Fitzsimmons, K., & Yi, Y. (2024).** Farming tilapia in saline waters. *Tilapia*, 347-447.
- Weaver, R. J., Cobine, P. A., & Hill, G. E. (2017).** On the bioconversion of dietary carotenoids to astaxanthin and its distribution in the marine copepod, *Tigriopus californicus*. *bioRxiv*, 174300.
- Webster, C. D., & Lim, C. (Eds.). (2024).** Tilapia: biology, culture, and nutrition. CRC Press.
- Weeratunge, W. K. O. V., & Perera, B. G. K. (2016).** Formulation of a fish feed for gold fish with natural astaxanthin extracted from shrimp waste. *Chemistry Central Journal*, 10(1), 44.

- Wilawan, B., Chan, S. S., Ling, T. C., Show, P. L., Ng, E. P., Jonglertjunya, W., ... & Khoo, K. S. (2024).** Advancement of carotenogenesis of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*: recent insight and way forward. *Molecular Biotechnology*, 66(3), 402-423.
- Wu, J. P., & Chen, H. C. (2004).** Effects of cadmium and zinc on oxygen consumption, ammonium excretion, and osmoregulation of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Chemosphere*, 57(11), 1591-1598.
- Wu, S., Zhao, M., Gao, S., Xu, Y., Zhao, X., Liu, M., & Liu, X. (2021).** Change regularity of taste and the performance of endogenous proteases in shrimp (*Penaens vannamei*) head during autolysis. *Foods*, 10(5), 1020.
- Wu, X. Y., & Yang, Y. F. (2011).** Heavy metal (Pb, Co, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn and Zn) concentrations in harvest-size white shrimp *Litopenaeus vannamei* tissues from aquaculture and wild source. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(1), 62-65.
- Wu, Y., Bashir, M. A., Shao, C., Wang, H., Zhu, J., & Huang, Q. (2024).** Astaxanthin targets IL-6 and alleviates the LPS-induced adverse inflammatory response of macrophages. *Food & Function*, 15(8), 4207-4222.
- Xiao, F., Xu, T., Lu, B., & Liu, R. (2020).** Guidelines for antioxidant assays for food components. *Food Frontiers*, 1(1), 60-69.
- Xie, Z., Wang, F., Zhu, A., Niu, H., Liu, H., & Guo, S. (2011).** Effects of diets microencapsulated with different wall materials on growth and digestive enzymes of the larvae of *Penaeus japonicus* Bate. *Journal of Shellfish Research*, 30(1), 133-138.
- Xu, J., Luo, Y., Chen, S., Chen, Q., Tang, Y., Zhang, R., ... & Han, T. (2025).** DHA-enriched phosphatidylcholine enhances DHA/EPA deposition in muscle together with increasing antioxidant capacity and immunity of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Animal Feed Science and Technology*, 327, 116425.
- Xu, W., Liu, Y., Huang, W., Yao, C., Yin, Z., Mai, K., & Ai, Q. (2022).** Effects of dietary supplementation of astaxanthin (Ast) on growth performance, activities of digestive enzymes, antioxidant capacity and lipid metabolism of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) larvae. *Aquaculture Research*, 53(13), 4605-4615.
- Xu, Y. F., Létisse, F., Absalan, F., Lu, W., Kuznetsova, E., Brown, G., Caudy, A. A., Yakunin, A. F., Broach, J. R., & Rabinowitz, J. D. (2013).** Nucleotide degradation and ribose salvage in yeast. *Molecular systems biology*, 9, 665.

- Yamashita, E. (2013).** Astaxanthin as a medical food. *Functional Foods in Health and Disease*, 3(7), 254-258.
- Yan, N., & Chen, X. (2015).** Sustainability: Don't waste seafood waste. *Nature*, 524(7564), 155-157.
- Yanar, Y., Çelik, M., & Yanar, M. (2004).** Seasonal changes in total carotenoid contents of wild marine shrimps (*Penaeus semisulcatus* and *Metapenaeus monoceros*) inhabiting the eastern Mediterranean. *Food Chemistry*, 88(2), 267-269.
- Yang, S., Zhou, Q., Yang, L., Xue, Y., Xu, J., & Xue, C. (2015).** Effect of thermal processing on astaxanthin and astaxanthin esters in pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Journal of oleo science*, 64(3), 243-253.
- Yao G, Muhammad M, Zhao J, Liu J, Huang Q. (2022).** DFT-based Raman spectral study of astaxanthin geometrical isomers. *Food Chemistry: Molecular Sciences*, 4, 100103.
- Yao, G., Guo, S., Yu, W., Muhammad, M., Liu, J., & Huang, Q. (2021).** DFT and Raman study of all-trans astaxanthin optical isomers. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 262, 120143.
- Yasuda, R., Kamada, K., Murakami, T., Inoue, R., Mizushima, K., Hirose, R., ... Itoh, Y. (2023).** Astaxanthin attenuated the stress-induced intestinal motility disorder via altering the gut microbiota. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 93(5), 427–437.
- Yerlikaya, P., Topuz, O. K., Buyukbenli, H. A., & Gokoglu, N. (2013).** Fatty acid profiles of different shrimp species: Effects of depth of catching. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 22(3), 290-297.
- Yi, X., Xu, W., Zhou, H., Zhang, Y., Luo, Y., Zhang, W., & Mai, K. (2014).** Effects of dietary astaxanthin and xanthophylls on the growth and skin pigmentation of large yellow croaker *Larimichthys croceus*. *Aquaculture*, 433, 377-383.
- Yin, Z., Hu, D., Li, X., Zhong, Y., & Zhu, L. (2021).** Shell-derived chitosan as a green flocculant to harvest microalgae for biofuel production. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 15(3), 637-645.
- Yoshihara, T., Sugiura, T., Shibaguchi, T., & Naito, H. (2019).** Role of astaxanthin supplementation in prevention of disuse muscle atrophy: a review. *The journal of physical fitness and sports medicine*, 8(2), 61-71.

- Yosuva, M., Jeyapragash, D., Manigandan, V., Gunasekaran, K., Priyanka, K., Selvam, D., & Saravanakumar, A. (2025).** Trace metal accumulation in oceanic tuna species and its implication on human health. *Environmental Geochemistry and Health*, 47(7), 242.
- You, H. S., Jang, Y. S., Sathiyaseelan, A., Ryu, S. J., Lee, H. Y., & Baek, J. S. (2025).** Antibiofilm and anticancer activity of multi-walled carbon nanotubes fabricated with hot-melt extruded astaxanthin-mediated synthesized silver nanoparticles. *International Journal of Nanomedicine*, 343-366.
- Younis, O. S., Oraith, A. A. T., Metwally, K. A., Dessoky, E. S., Mahmoud, S. F., Rashed, M. N., ... & Elwakeel, A. E. (2025).** Drying characteristics, environmental and economic analysis of a solar dryer with evacuated tube solar collector for drying Nile Tilapia slices. *Scientific Reports*, 15(1), 9822.
- Youssef, F. M., Ateyya, H., Hanna Samy, A. E., & Elmokadem, E. M. (2025).** The anti-inflammatory and antioxidant effects of astaxanthin as an adjunctive therapy in community-acquired pneumonia: a randomized controlled trial. *Frontiers in Pharmacology*, 16, 1621308.
- Ytrestøyl, T., Ruyter, B., Østbye, T. K. K., Hatlen, B., Afanasyev, S., Bou, M., ... & Krasnov, A. (2025).** Dietary Content of Plant Ingredients and Phospholipids Affects Astaxanthin Utilization and Lipid Deposition in Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture Nutrition*, 2025(1), 3454274.
- Yu, J., Li, D., Zhu, J., Zou, Z., Xiao, W., Chen, B., & Yang, H. (2025).** Salt tolerance performance and associated gene analysis of three tilapia species (strains). *Fish Physiology and Biochemistry*, 51(2), 1-17.
- Yu, Z., Li, D., Yin, F., Zhao, Q., Liu, Z., Song, L., ... Wang, T. (2020).** Lipid Profiles in By-Products and Muscles of Three Shrimp Species (*Penaeus monodon*, *Penaeus vannamei*, and *Penaeus chinensis*). *European Journal of Lipid Science and Technology*, 122(7), 1900309.
- Yuan, J. P., & Chen, F. (1999).** Isomerization of trans-astaxanthin to cis-isomers in organic solvents. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(9), 3656-3660.
- Yue, G. H., Ma, K. Y., & Xia, J. H. (2024).** Status of conventional and molecular breeding of salinity-tolerant tilapia. *Reviews in Aquaculture*, 16(1), 271-286.
- Yufeng, D. U., Hongxia, C. H. E., Xiaoran, L. I., Miaomiao, Z. H. O. U., & Peng, H. O. U. (2025).** Research progress on digestion, absorption and health efficacy of astaxanthin ester. *Food and Machinery*, 40(9), 219-227.

- Yulianto, T., Putri, D. S., Miranti, S., & Putra, W. K. A. (2021).** Utilization of shrimp shell waste as alternative raw for mariculture. *E3S Web of Conferences*, 324, 3–6.
- Zang, R., Charbonnier, F., Rolando, C., Bas, P., & Arpino, P. (1997).** Analyse des acides gras de la graisse d'agneau par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. *Analisis*, 25(9), 346.
- Zeb, A., & Murkovic, M. (2011).** Carotenoids and triacylglycerols interactions during thermal oxidation of refined olive oil. *Food Chemistry*, 127(4), 1584-1593.
- Zhang, J., Tian, C., Zhu, K., Liu, Y., Zhao, C., Jiang, M., Zhu, C., & Li, G. (2023).** Effects of Natural and Synthetic Astaxanthin on Growth, Body Color, and Transcriptome and Metabolome Profiles in the Leopard Coral grouper (*Plectropomus leopardus*). *Animals*, 13(7), 1252.
- Zhang, L., & Wang, H. (2015).** Multiple mechanisms of anti-cancer effects exerted by astaxanthin. *Marine drugs*, 13(7), 4310-4330.
- Zhang, L., Zhang, R., Jiang, X., Wu, X., & Wang, X. (2024).** Dietary supplementation with synthetic astaxanthin and DHA interactively regulates physiological metabolism to improve the color and odor quality of ovaries in adult female *Eriocheir sinensis*. *Food Chemistry*, 430, 137020.
- Zhang, S., Chang, Z., Wang, W., Zheng, Y., & Li, J. (2022).** Dietary supplement of microalgal astaxanthin extraction improved shell pigmentation and nutritional value of *Litopenaeus vannamei* in an indoor industrial aquaculture system. *Aquaculture Nutrition*, 2022(1), 3981246.
- Zhang, X., Ning, X., He, X., Sun, X., Yu, X., Cheng, Y., ... & Wu, Y. (2020).** Fatty acid composition analyses of commercially important fish species from the Pearl River Estuary, China. *PLoS One*, 15(1), e0228276.
- Zhang, Y., Wang, X., Su, D., Zhao, L., Leng, K., Miao, J., & Yu, Y. (2025).** Effective astaxanthin production from flocculated *Haematococcus pluvialis* via biofilm cultivation in a tri-layer tray bioreactor. *Journal of Biotechnology*.
- Zhao, L., Chen, F., Zhao, G., Wang, Z., Liao, X., & Hu, X. (2005).** Isomerization of trans-astaxanthin induced by copper (II) ion in ethanol. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(24), 9620-9623.

- Zhao, L., Li, L., Zhang, Y., He, Z., Chen, X., Liu, Y., ... & Liu, Y. (2024).** Targeting synovial macrophages with astaxanthin-loaded liposomes for antioxidant treatment of osteoarthritis. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 10(11), 7191-7205.
- Zhao, L., Zhao, G., Chen, F., Wang, Z., Wu, J., & Hu, X. (2006).** Different effects of microwave and ultrasound on the stability of (all-E)-astaxanthin. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(21), 8346-8351.
- Zhao, T., Yan, X., Sun, L., Yang, T., Hu, X., He, Z., ... & Liu, X. (2019).** Research progress on extraction, biological activities and delivery systems of natural astaxanthin. *Trends in Food Science & Technology*, 91, 354-361.
- Zheng, L., Wang, Z., Zhang, B., Yan, L., Wang, P., Zhao, C., Lin, H., Qiu, L., & Zhou, C. (2023).** Effects of High Dietary Carbohydrate Levels on Growth Performance, Enzyme Activities, Expression of Genes Related to Liver Glucose Metabolism, and the Intestinal Microbiota of *Lateolabrax maculatus* Juveniles. *Fishes*, 8(9), 431.
- Zheng, X., & Huang, Q. (2022).** Assessment of the antioxidant activities of representative optical and geometric isomers of astaxanthin against singlet oxygen in solution by a spectroscopic approach. *Food Chemistry*, 395, 133584.
- Zhong, C., Liu, T., Diao, J., Li, X., Liu, M., & Wang, Y. (2025).** Preparation and characterization of astaxanthin-loaded liposomes by phytosterol oleate instead of cholesterol. *Food Chemistry*, 462, 141008.
- Zhong, G., Wang, X., Li, J., Xie, Z., Wu, Q., Chen, J., ... & Wang, Q. (2024).** Insights into the role of copper in neuro degenerative diseases and the therapeutic potential of natural compounds. *Current neuropharmacology*, 22(10), 1650-1671.
- Zhou, Q., Xu, J., Yang, S., Xue, Y., Zhang, T., Wang, J., & Xue, C. (2015).** The effect of various antioxidants on the degradation of O/W microemulsions containing esterified astaxanthins from *Haematococcus pluvialis*. *Journal of Oleo Science*, 64(5), 515-525.
- Zhou, T., Wang, X., Ju, Y., Shi, C., & Kan, G. (2018).** Stability application and research of astaxanthin integrated into food. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 394, 022007. IOP Publishing.
- Zhu, K., Yan, W., Dai, Z., & Zhang, Y. (2022).** Astaxanthin extract from shrimp (*Trachypenaeus curvirostris*) by-products improves quality of ready-to-cook shrimp surimi products during frozen storage at – 18 C. *Foods*, 11(14), 2122.

Zou, T. B., Jia, Q., Li, H. W., Wang, C. X., & Wu, H. F. (2013). Response surface methodology for ultrasound-assisted extraction of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. *Marine drugs*, 11(5), 1644-1655.

Publications



Extraction, Identification, and Bioactivity Assessment of Astaxanthin from Red Shrimp (*Aristeus antennatus*) By-products: A Comprehensive Analysis Using GRAS Solvents

Fatima Zahra Rebita¹ · Meriem Mokhtar¹ · Nour El Houda Mahdjoub¹ · Soumia Keddari¹ · Roberto Laganà Vinci² · Katia Arena² · Francesco Cacciola² · Abdelkader El-Amine Dahou³ · Luigi Mondello^{2,4}

Received: 9 June 2025 / Accepted: 12 October 2025

© The Author(s), under exclusive licence to Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2025

Abstract

Astaxanthin, a natural red pigment belonging to the xanthophyll class, is widely found in microorganisms, algae, and crustaceans. This study addresses for the first time the challenge of efficiently extracting astaxanthin from shrimp by-products (*Aristeus antennatus*) using environmentally friendly GRAS solvents (acetone, ethanol, ethyl acetate, and isopropanol). For such a scope, astaxanthin content was identified and quantified by HPLC-DAD-APCI-MS, followed by the evaluation of the seasonal variation and the effect of thermal processing. Additionally, the antioxidant and antimicrobial potentials of the extracted astaxanthin were investigated to determine its functional value. Results demonstrated that acetone at a 1:20 solvent-to-solid ratio for 60 min at 30 °C achieved the highest extraction yield (1346.38 ± 37.31 µg/g). Astaxanthin content peaked in autumn and declined during summer, while cooking led to significant pigment loss. The extract exhibited strong antioxidant activity ($EC_{50} = 25.42 \pm 1.43$ µg/mL) and moderate antimicrobial effects (MIC range 25–1500 µg/mL). This study highlights the potential application of shrimp by-product-derived astaxanthin as a natural antioxidant and colorant in food industries, offering a sustainable valorization pathway for seafood waste.

Keywords Carotenoids · Green extraction · HPLC-DAD-APCI-MS · Antioxidant · Antimicrobial

Introduction

Seafood is an important food source for human consumption and is consumed worldwide for its flavor and high nutritional properties. Crustaceans, mostly shrimps, constitute the predominant segment of the seafood industry (Abuzar et al. 2023). Shrimps are of great nutritional value and are very rich in proteins (amino acids, peptides, collagen, enzymes), polysaccharides (chitin/chitosan), fatty acids (omega-3 fatty acids, particularly eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA)), pigments (astaxanthin), and minerals (calcium, phosphorus, iron, magnesium, sodium, and potassium) (Abuzar et al. 2023; Hossain and Shahidi 2024). However, approximately 13 million tons of crustacean shell waste is generated annually, with 45% to 60% of the entire shrimp consisting of heads and hard shells rich in bioactive compounds which are discarded unutilized (Fotodimas et al. 2024). This waste presents significant environmental challenges and could be valuable for application in the food and nutraceutical industries to develop new products via fortification and enrichment.

✉ Francesco Cacciola
cacciola@unime.it

¹ Laboratory of Bioeconomy, Food Safety and Health, Faculty of Natural Sciences and Life, University of Abdelhamid Ibn Badis, 27000 Mostaganem, Algeria

² Messina Institute of Technology c/o Department of Chemical, Biological, Pharmaceutical and Environmental Sciences, Former Veterinary School, University of Messina, 98168 Messina, Italy

³ Laboratory of Sciences and Techniques of Animal Production, University of Abdelhamid Ibn Badis, 27000 Mostaganem, Algeria

⁴ Chromaleont s.r.l. c/o Department of Chemical, Biological, Pharmaceutical and Environmental Sciences, Former Veterinary School, University of Messina, 98168 Messina, Italy

Astaxanthin is a carotenoid member of the xanthophyll group, characterized by its orange-red color found in numerous microorganisms and other marine animals (Haque et al. 2023). It is usually bound to amino acids or esterified with fatty acids (Guerin et al. 2003). Astaxanthin is an excellent antioxidant: it is 110 times stronger than vitamin E, 560 times higher than green tea catechins, 800 times than Co-Q 10, 3000 times more than resveratrol, and 6000 times than vitamin C (Patil et al. 2022), thus highlighting an outstanding capacity to scavenge free radicals and stop oxidation (Rebita et al. 2025). In addition to its antioxidant activity, astaxanthin has other biological activities, including anti-inflammatory and anti-aging properties (Hu et al. 2019). It has also been proven to prevent diabetes, hypertension, and cardiovascular diseases (Zou et al. 2013). There are several applications of astaxanthin in agriculture and food products (Handayani et al. 2008), and in pharmaceutical and nutraceutical (Rao et al. 2007), cosmetic, and biomedical (Stachowiak and Szulc 2021) fields.

The US Food and Drug Administration (FDA) has approved astaxanthin as a feed additive for aquaculture (Fassett and Coombes 2012). It is found in microorganisms, e.g., the red algae *Haematococcus pluvialis* and crustaceans such as shrimp, crab, and lobster. Several studies have focused on the extraction of astaxanthin from shrimp waste due to its high astaxanthin content (Handayani et al. 2008; Chintong et al. 2019). Various extraction methods have been reported, including organic solvent (Dave et al. 2020), vegetable oil (Pu et al. 2010), supercritical CO₂ (López et al. 2004), fermentation (Jafari et al. 2023), and enzymatic (Wang et al. 2021) extractions. Although approaches such as supercritical CO₂ and enzymatic extraction offer advantages in terms of selectivity and purity, they are often associated with high operational costs, complex equipment, and extended processing times, making them less suitable for large-scale or low-cost applications such as the valorization of seafood by-products. In contrast, organic solvent extraction remains one of the most cost-effective and scalable techniques due to its simplicity, relatively low energy requirements, and shorter processing times.

Among shrimp species, *Aristeus antennatus* is a commercially significant deep-sea shrimp in the Mediterranean region, particularly along the Algerian and western Mediterranean coasts. Despite its economic importance, its by-products remain largely unexploited compared to more studied species. These by-products contain high levels of valuable bioactive compounds, such as astaxanthin, that are often discarded, representing a substantial missed opportunity for waste valorization. Therefore, focusing on *A. antennatus* allows us to explore an underutilized resource with high potential for developing novel natural antioxidants.

Organic solvents have consistently been known to have significant interest. However, only a few studies have

examined the influence of extraction parameters on astaxanthin yield, particularly in *A. antennatus*. This study investigates whether optimizing extraction conditions using generally recognized as safe (GRAS) solvents enhances the recovery of astaxanthin from *A. antennatus* by-products. It also examines if seasonal variation and thermal processing impact the astaxanthin content. Furthermore, the antioxidant and antimicrobial activities of the extract are evaluated to determine its suitability as a functional bioactive ingredient in food applications. Through this comprehensive approach, the study aims to support the sustainable valorization of an underutilized marine resource with potential industrial relevance.

Material and Methods

Preparation of Shrimp Waste Powder

Shrimp *Aristeus antennatus* waste, including heads, shells, and tails, was provided from fisheries located in Mostaganem (Algeria) in October 2022. The waste was transported to the laboratory under frozen conditions. After that, it was washed under tap water multiple times, freeze-dried (Kalstein YR05194), then ground and sieved. The resulting powder (0.5 mm) was stored at −20 °C in airtight, light-protected containers. All samples were used within 2 months, a period during which astaxanthin is considered stable under such storage conditions.

Extraction of Astaxanthin from Shrimp Waste

The organic solvents classified as “GRAS” used in this extraction were ethanol, ethyl acetate, acetone, and isopropanol, all obtained from Merck KGaA (Darmstadt, Germany). Astaxanthin extraction was performed under dark conditions to prevent photodegradation, according to the method of Sindhua and Sherief (2011) with some modifications. A volume of 10 mL of the organic solvent was mixed with 1 g of the powder under stirring for 1 h at room temperature. The extraction was repeated three times per sample until the residue became colorless, indicating exhaustive pigment removal. Following each extraction, the solution was filtered through Whatman filter paper. The recovered extracts were concentrated using a rotary evaporator (SCILOGEX SCI100-S) at 45 °C under reduced pressure to remove the organic solvents. The resulting crude extract was then dried under a nitrogen stream and stored at −20 °C in amber vials until further analysis. Each extraction experiment was conducted in triplicate to guarantee the accuracy and reproducibility of the data, allowing for statistical validation of the results.

Optimization of Extraction Parameters

After selecting the most suitable solvent for astaxanthin recovery from red shrimp by-products, three parameters were optimized: solid–liquid ratio, temperature, and extraction time. Ratios of 1:5, 1:10, 1:20, and 1:30 (w/v) were tested. Extractions were carried out at 30, 40, 50, and 60 °C, and the effect of time was evaluated at 30, 45, 60, 75, and 90 min. These factors were chosen for their influence on mass transfer, solubility, compound release, and thermal stability, as highlighted in previous carotenoid extraction studies.

Spectrophotometric Determination of Astaxanthin

The astaxanthin content in each extract was determined by UV-Vis spectroscopy using a K LAB OPTIZEN POP-V spectrophotometer (Korea). A calibration curve was prepared with free astaxanthin standard Merck KGaA (Darmstadt, Germany) (, and absorbance was measured at 476 nm (Asker et al. 2018). All measurements were performed in triplicate, and results are expressed as the mean $\pm$ standard deviation of astaxanthin content per gram of shrimp waste.

Seasonal Variation of Astaxanthin

To investigate the impact of seasonal variation on astaxanthin yield, astaxanthin was extracted from red shrimp waste collected in each of the four seasons: autumn, winter, spring, and summer. The extraction was performed using acetone, following the same developed method employed. The astaxanthin content was measured using UV-Vis spectrometry at a wavelength of 476 nm.

Effect of Cooking on Astaxanthin Content

Given the widespread local culinary practice of cooking whole shrimp, it is critical to evaluate the impact of thermal processing on astaxanthin content to determine the potential for valorization of cooked shrimp by-products. Astaxanthin is susceptible to thermal degradation, particularly when exposed to heat in the presence of oxygen, leading to structural isomerization and pigment loss. To assess the impact of cooking, whole fresh shrimp (*A. antennatus*), with an average length of 58.36 ± 9.57 mm and weight of 37.62 ± 4.72 g, were obtained from the same fisheries in Mostaganem (Algeria) and transported under identical frozen conditions as previously described. The shrimp were boiled at 100 °C for 10 min and then manually peeled to separate the meat and waste (Swastawati and Conf 2018). Both raw and cooked waste samples were homogenized, and

astaxanthin was extracted using the same optimized method and quantified spectrophotometrically using the method detailed earlier.

Identification and Quantification of Astaxanthin Content by HPLC-DAD-APCI-MS

For the astaxanthin identification and quantification, the analysis was conducted using a Shimadzu HPLC system (Kyoto, Japan) equipped with a CBM-20A controller, two LC-30AD dual-plunger parallel-flow pumps, a DGU20A5R degasser, a CTO-20AC column oven, a SIL-30AC autosampler, an SPD-M20A photodiode array detector, and an LCMS-2020 mass spectrometer, with the employment of an APCI source operated in positive ionization mode. Chromatographic separations were carried out on a YMC Carotenoid C30 column (250 $\times$ 4.6 mm; 5 μ m) (YMC Europe, Schermbeck, Germany). The mobile phase consisted of two solvents: MeOH: H₂O (96:4, solvent A) and MTBE (solvent B) (Mokhtar et al. 2016). The flow rate was set at 0.8 mL/min and reduced to 0.35 mL/min prior to MS analysis. The gradient elution was as follows: 0–30 min: 5% B, 40 min: 30% B. The oven temperature was set to 35 °C, and the injection volume was 5 μ L. Diode array detection (DAD) was applied in the 220–700 nm range and monitored at a wavelength of 480 nm (sampling frequency: 12.5 Hz, time constant: 0.080 s). The MS was set as follows: scan, both APCI positive (+) and negative (–); detector voltage: 1.50 kV; interface temperature: 400 °C; CDL temperature: 250 °C; block heater temperature: 250 °C; nebulizing gas flow (N₂): 2.5 L/min; ion accumulation time, 30 ms; full scan range: 200–1200 m/z; event time: 300 ms; repeat, 3; ASC, 70% (El Boumlasy et al. 2024). The quantitative determination of each compound was performed using astaxanthin as an external standard ($y = 351,550x - 170,466$, $R^2 = 0.9998$; LOD = 0.003 μ g/mL, LOQ = 0.009 μ g/mL). The results were obtained from the average of three determinations and are expressed as mg/g of waste $\pm$ standard deviation.

Evaluation of the Biological Activities of Astaxanthin Extract

Antioxidant Activity

Determination of DPPH Free Radical-Scavenging Activity

The antioxidant activity of astaxanthin extract from shrimp waste was assessed by measuring the free radical scavenging capacity using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) free radical as described by Bougandoura and Bendimerad (2012). A sample of 100 μ L of the extract at different concentrations was added to 1.9 mL of daily DPPH methanolic

solution (0.1 mM). The mixture was incubated in the dark for 30 min, then the absorbance was measured at 517 nm against a blank. Ascorbic acid was used as the reference standard.

Potassium Ferricyanide Reducing Power (PFRAP Assay)

In the PFRAP assay, substances exhibiting antioxidant ability interact with potassium ferricyanide ($K_3[Fe(CN)_6]$) and generate potassium ferrocyanide ($K_4[Fe(CN)_6]$). The former interacts with ferric trichloride, producing ferric ferrocyanide, a blue complex, exhibiting maximum absorbance at 700 nm. The reducing power of the astaxanthin extract was determined according to the method described by Oyaizu (1986). A sample of 1 mL (astaxanthin extract or ascorbic acid) was mixed with 2.5 mL of phosphate buffer (0.2 M; pH = 6.6) and 2.5 mL of 1% potassium hexacyanoferrate [$K_3Fe(CN)_6$]. After incubating the mixture at 50 °C for 20 min, 2.5 mL of 10% trichloroacetic acid was added, and then, the solutions were centrifuged at 3000 rpm for 10 min. Subsequently, 2.5 mL of the supernatant from each tube was mixed with 2.5 mL of distilled water and 0.5 mL of FeCl (0.1%, w/v). The absorbance is then measured at 700 nm against a blank sample. An increase in the absorbance of the reaction mixture signifies an enhancement in reducing power.

Antimicrobial Activity

Microbial Strains

Staphylococcus aureus ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 10536, *Listeria monocytogenes* ATCC 1392, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, and *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 were obtained from LBSAS laboratory (University of Mostaganem, Algeria).

Determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) is the lowest concentration at which no bacterial growth is observed after incubation. The positive control (gentamicin) and astaxanthin extract's MIC values were determined using the broth microdilution method as specified by CLSI (2023). A series of plates with Muller–Hinton broth containing 100 µL of the diluted extract and 100 µL of each bacteria suspension were incubated for 24 h at 37 °C. The final concentration of the inoculum was approximately 5×10^5 CFU/mL. The growth in each well was quantified by using a visual observation method, and the turbidity was interpreted as visible growth of bacteria.

Statistical Analysis

Data were analyzed using Statbox Pro (v6.40). Results are expressed as mean $\pm$ SD of triplicate experiments. Differences between groups were assessed by one-way ANOVA with Tukey's post-hoc test, with the significance threshold set at $p < 0.05$.

Results and Discussion

Extraction Method Development

Solvent Choice

The determination of astaxanthin in the by-products of red shrimp revealed that the choice of solvent is crucial for the extraction process. In this study, some organic GRAS solvents (ethanol, ethyl acetate, acetone, and isopropanol) were used to extract astaxanthin. Table 1 indicates that acetone offers the best carotenoid yield, with a concentration of 590.47 µg/g shrimp waste, followed by ethanol (543.15 µg/g), and ethyl acetate (483.79 µg/g). Isopropanol was the least efficient solvent for carotenoid extraction, yielding only 212.89 µg/g. Acetone, as a moderately polar organic solvent, is frequently used to extract carotenoids and xanthophylls (Dave et al. 2020). In a study conducted by Tsiaka et al. (2015), a high astaxanthin yield of 233.6 µg/g was obtained with acetone from *A. antennatus* head. De Aguiar Saldanha Pinheiro et al. (2023) investigated the effect of two innovative extraction technologies (pulsed electric fields (PEFs) and accelerated solvent extraction (ASE)), using ethanol and DMSO as solvents on the extraction of astaxanthin from *A. antennatus*. They reported that astaxanthin values varied from 169.6 ± 2.6 to 585.90 ± 6.9 µg/g dw. The species *A. antennatus* is considered a good source of carotenoids, especially astaxanthin, which explains the excellent extraction yields obtained by the various solvents. In several studies, authors reported lower values of astaxanthin from other species, such as *Procambarus clarkii*, *Melicerus kerathurus*, *Litopenaeus vannamei*, *Litopenaeus stylirostris*, and *Litopenaeus setiferus* (Hu et al. 2019; De

Table 1 Astaxanthin content obtained with different organic solvents

Solvent	Astaxanthin content (µg/g of shrimp waste)
Isopropanol	212.89 $\pm$ 14.28
Ethanol	543.15 $\pm$ 20.04
Ethyl acetate	483.79 $\pm$ 11.67
Acetone	594.46 $\pm$ 22.71

Aguilar Saldanha Pinheiro et al. 2023; Gimeno et al. 2007; Yuan and Chen 1999).

Effect of Solid–Liquid Ratio

After selecting the appropriate solvent for the extraction of astaxanthin, the influence of the solid–liquid ratio was explored. The solid–liquid ratio is typically a significant factor influencing extraction efficiency. Four solid–liquid ratios were chosen: 1:5, 1:10, 1:20, and 1:30. Based on the results (Fig. 1A), the extraction efficacy of astaxanthin improved as the solid–liquid ratio increased. The best yield was obtained at 1:30 with an astaxanthin content of 1345 µg/g. As no significant difference was observed between the 1:20 and 1:30 astaxanthin yields ($p \geq 0.05$), the ratio of 1:20 was chosen for the rest of the extraction optimization for solvent economy. An adequate enhancement of the extraction solvent could improve the contact surface between the sample and acetone, hence facilitating diffusion and improving the extraction efficiency of astaxanthin. Similar results were obtained in a study conducted by Zou et al. (2013), who investigated the effect of solid–liquid ratio on the astaxanthin extraction from *Haematococcus pluvialis*. They found that the astaxanthin yield significantly improved when this ratio decreased from 1:5 to 1:20. After 1:20, the astaxanthin yield was almost unchanged.

Effect of Extraction Temperature

To investigate the effect of temperature on the extraction yield of astaxanthin, extractions were carried out at four increasing temperatures (30, 40, 50, and 60 °C) with a 1:20 solid–liquid ratio of acetone for 1 h. According to the results obtained (Fig. 1B), the best astaxanthin yield was obtained at 30 °C. The increase in temperature significantly affects the astaxanthin yield; 66% of astaxanthin was lost with the extraction temperature of 50 °C. The lowest astaxanthin content was obtained with the highest extraction temperature of 60 °C (297.65 µg/g). This reduction is mainly due to the boiling point of acetone at 56.2 °C, which causes solvent evaporation. In addition, high temperature can lead to astaxanthin dissociation from protein molecules, leading to partial degradation of the molecule by isomerization from *trans* to *cis* form (Yuan and Chen 1999; Santos et al. 2021). Zou et al. (2013) reported that the astaxanthin content from *Haematococcus pluvialis* improved with extraction temperature ranging from 20 to 40 °C; beyond this temperature, the yield decreased due to the degradation of astaxanthin.

Effect of the Extraction Time

Extraction time was fixed at 30 min, 45 min, 60 min, 75 min, and 90 min with a solid–liquid ratio of 1:20 of acetone and

a temperature of 30 °C. The astaxanthin extraction yield escalated, reaching a maximum value of 1346.38 µg/g at an extraction time of 60 min (Fig. 1C). After a more extended time, the yield of astaxanthin started decreasing quickly. This decrease is primarily attributed to the degradation and isomerization of astaxanthin, which can occur due to prolonged exposure to light, oxygen, and organic solvents such as acetone (Villalobos-Castillejos et al. 2013). Additionally, chemical extraction processes can accelerate carotenoid degradation, especially after the disruption of the cellular matrix, where astaxanthin becomes more vulnerable to oxidation and degradation (Irshad et al. 2019). Consequently, the ideal extraction time in the present study was 60 min. The same extraction time was selected in the research of Gao et al. (2020), who extracted astaxanthin from shrimp waste (*Penaeus vannamei*) using ionic liquid-in-water microemulsions. They reported that extended extraction time could break down astaxanthin.

Seasonal Variation

Crustaceans and other aquatic animals do not produce astaxanthin; on the other hand, they accumulate it in their bodies by consuming phytoplankton and certain microalgae, which serve as the primary source of astaxanthin (Senthamil and Kumaresan 2015). The astaxanthin content of shrimp waste throughout different seasons was investigated; the results are reported in Table 2. The astaxanthin content varies significantly ($p \leq 0.05$) during the four seasons. Shrimp waste collected during autumn gave the highest yield (1355.36 ± 22.71 µg/g), followed by the sample collected in spring (1211.34 ± 5.13 µg/g). This variation may be linked to changes in the shrimp's feeding habits, as reported in a study conducted by Kennouche and Nouar (2013), which investigated seasonal shifts in feeding intensity and somatic condition of Algerian *A. antennatus*. The study found that the vacuity coefficient (percentage of empty stomachs) was lowest in spring, indicating intense feeding during the pre-reproductive months, and highest in summer, reflecting reduced trophic activity during spawning. The vacuity coefficient then decreased again in autumn, reflecting renewed feeding efforts to restore energy reserves after the reproductive period. Following spawning in summer, the relative condition factor (K'), a length-standardized index of body condition, increased to the maximum in autumn to restore energy reserves depleted during the reproductive phases.

Besides that, algae, the principal carotenoid provider, depend on environmental conditions associated with different seasons, which causes the carotenoid content in shrimp to vary accordingly. Yanar et al. (2004) investigated the seasonal variations in total carotenoid content in two shrimp species from Turkey, *Penaeus semisulcatus* and *Metapenaeus monoceros*. Their study revealed that

Fig. 1 Influence of solid–liquid ratio (A), extraction temperature (B), and extraction time (C) on astaxanthin content ($\mu\text{g/g}$) extracted from *A. antennatus* by-products. Data present mean $\pm$ standard deviation

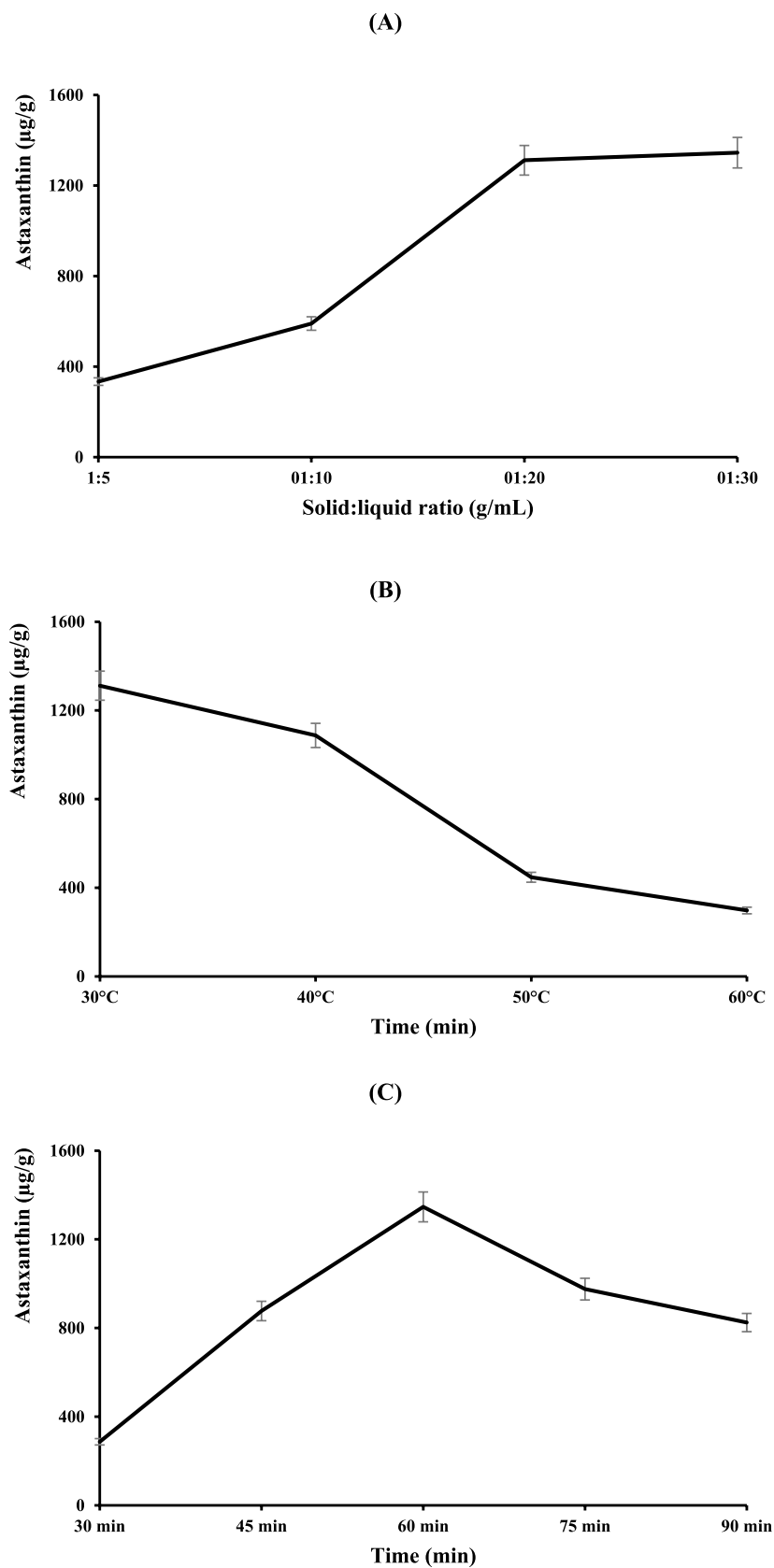


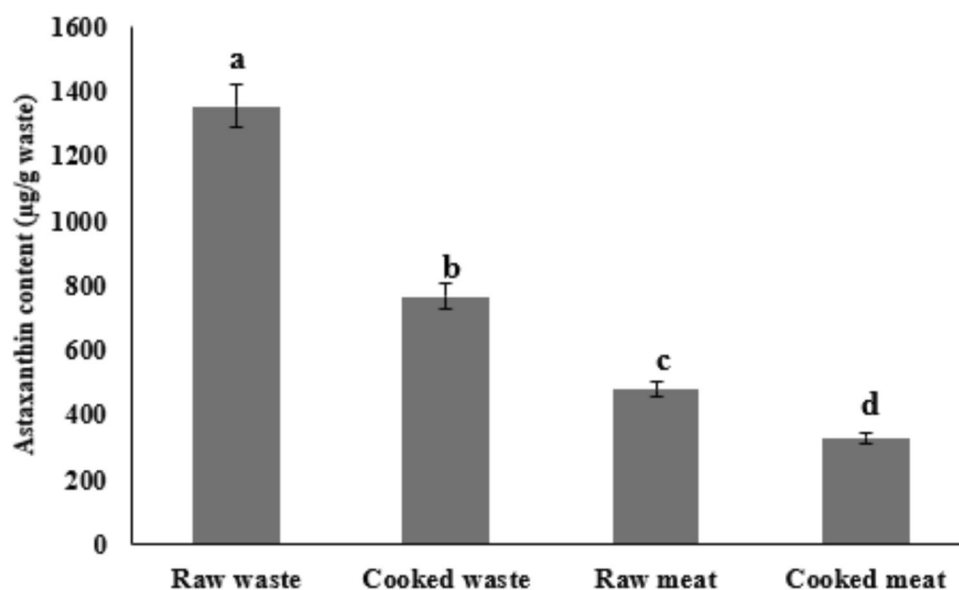
Table 2 Astaxanthin content in different seasons of shrimp waste

Season	Astaxanthin content ($\mu\text{g/g}$ of shrimp waste)
Autumn	1355.36 ± 22.71
Winter	881.72 ± 8.02
Spring	1211.34 ± 5.13
Summer	659.99 ± 11.7

both species exhibited significantly higher carotenoid levels in spring and summer compared to winter and autumn. The researchers attributed these fluctuations in total carotenoid content to seasonal changes in the quality and quantity of algae, which serve as direct or indirect sources of food for the shrimp. Differences in results may also stem from geographical variation. Algeria, in particular, experiences high summer temperatures that are unfavorable for microalgae growth, since excessive heat can stress and damage algae, reducing growth and even causing cell death. Temperature plays a critical role in astaxanthin production in algae, and fluctuations in temperature can lead to differences in astaxanthin content. According to a study by Hong et al. (2015), temperatures ranging from 25 to 28 °C promote astaxanthin production in *Haematococcus pluvialis*. However, temperatures exceeding 30 °C can stress the algae and inhibit photosynthesis, as noted by Oslan et al. (2021). Astaxanthin content tends to be higher during autumn and spring, conditions that favor astaxanthin synthesis, typically occurring at temperatures between 24 and 28 °C along with adequate light intensity.

Effect of Thermal Treatment on Astaxanthin

Thermal degradation is a common phenomenon in astaxanthin. Heat treatment in the presence of oxygen leads to the degradation and structural isomerization of astaxanthin, thus reducing the nutritional quality of food color (Zhou et al. 2018). It is very important to study the effect of cooking on the astaxanthin content. The content of astaxanthin in raw and cooked meat and waste were investigated after boiling the sample for 10 min. Astaxanthin content is higher in the waste either raw or cooked than in the meat of the shrimp. After cooking, the thermal treatment caused the loss of 43% and 31% of shrimp waste and meat astaxanthin (Fig. 2). These results align with the findings of Sachindra et al. (2005), who investigated the total carotenoid content in various shrimp species. They reported that the levels ranged from 10.4 to 17.4 $\mu\text{g/g}$ in the meat, 35.8 to 153.1 $\mu\text{g/g}$ in the head, and 59.8 to 104.7 $\mu\text{g/g}$ in the carapace. Swastawati (2018) evaluated the effects of boiling, smoking, and frying on the pigment and chemical characteristics of tiger prawns, at a temperature of 100 °C for 10 min. The author reported that these cooking methods had a significant impact ($p < 0.05$) on various factors, including astaxanthin pigment, pH, moisture, protein, salt content, water activity, and color. The astaxanthin pigment levels measured in fresh, boiled, smoked, and fried prawns were as follows: 132.79 ± 1.5 $\mu\text{g/g}$ for fresh prawns, 82.89 ± 0.92 $\mu\text{g/g}$ for boiled prawns, 78.28 ± 0.1 $\mu\text{g/g}$ for smoked prawns, and 91.35 ± 2.59 $\mu\text{g/g}$ for fried prawns. Zhao et al. (2006) investigated the stability of standard astaxanthin when subjected to microwaving and ultrasound at different intensities. Their study demonstrated that microwaving only converted all-trans-astaxanthin to its cis-forms, primarily to 13-cis-astaxanthin. In contrast, ultrasound likely degraded this pigment

Fig. 2 Effect of thermal treatment on astaxanthin content (mean $\pm$ SEM. Different letters indicate $p < 0.05$ (ANOVA))

into colorless compounds. Additionally, Zeb and Murkovic (2011) incorporated astaxanthin into refined olive oils and heated them at 110 °C for 1 to 14 h. They found that astaxanthin degraded and isomerized as the duration of the thermal treatment increased.

Identification and Quantification of Astaxanthin by HPLC-DAD-APCI-MS

The HPLC-DAD-APCI-MS method with a C30 reversed-phase column was applied for the determination of the astaxanthin content in the by-products of *A. antennatus*. Identification was based on the elution order, UV-Vis and MS spectra. The chromatogram (Fig. 3) showed the presence of four main astaxanthin isomers, namely 13-cis-astaxanthin, all-trans astaxanthin, 15-cis-astaxanthin, and 9-cis-astaxanthin. It has been reported that astaxanthin is found in nature as a mixture of geometrical isomers, including small amounts of the 9-cis, 13-cis, and 15-cis forms, along with the predominant all-trans form (Nishida et al. 2023). These isomers exhibit different UV-Vis spectra, allowing immediate identification (Britton et al. 2012). Yang et al. (2015) reported that the presence of a cis double bond causes a shift to a shorter wavelength with respect to all-trans-astaxanthin forms.

In fact, compared to all-trans-astaxanthin, the 9-cis and 13-cis isomers exhibit hypsochromic shifts ranging from 4 to 8 nm. In some cases, the all-trans and the cis isomers may convert to each other when affected by selected conditions such as high temperature, light exposure, and the presence of acids and organic or metal ion solvents (Brotosudarmo et al. 2020). The quantitative analysis of the identified compounds in *A. antennatus* waste revealed that all-trans-astaxanthin is the major compound with a concentration of 499.49 ± 4.71 µg/g of waste, followed by 13-cis-astaxanthin (121.23 ± 1.94 µg/g) and 9-cis-astaxanthin (100.08 ± 2.72 µg/g) as reported in Table 3. The total amount of different astaxanthin isomers in the shrimp waste obtained with the developed method was 812.34 ± 7.33 µg/g. De Aguiar Saldanha Pinheiro et al. (2023) investigated the astaxanthin contents in *A. antennatus* and camarote prawn (*Melicerus kerathurus*) extracted with different techniques. They reported that *A. antennatus* had the highest astaxanthin content, ranging from 169.6 ± 2.6 to 585.90 ± 6.9 µg/g dw. Lower levels were obtained with *M. kerathurus* (47.3 ± 1.2 to 213.1 ± 3.4 µg/g dw). Data on the characterization of *A. antennatus* isomers is limited; most studies have been carried out on other species. Astaxanthin levels can vary among crustaceans depending on species, body parts, feed carotenoids

Fig. 3 HPLC chromatogram ($\lambda = 480$ nm) of astaxanthin extract of red shrimp waste. Peaks: (1) 13-cis-astaxanthin; (2) all-trans-astaxanthin; (3) 15-cis-astaxanthin; (4) 9-cis-astaxanthin

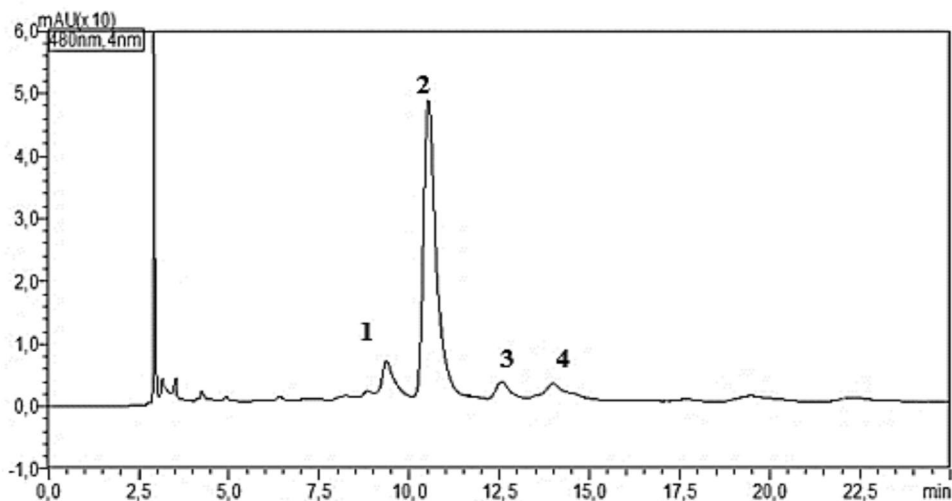


Table 3 HPLC-DAD-APCI-MS identification and quantification of major astaxanthin geometric isomers in *A. antennatus* waste

Peak n°	t_R (min)	λ_{max}	$[M+H]^+$	Compound	Quantification (µg/g)
1	9.37	369, 468	597	13-cis-astaxanthin	121.23 ± 1.94
2	10.79	476	597	All-trans astaxanthin	499.49 ± 4.71
3	12.55	469	597	15-cis-astaxanthin	91.52 ± 1.68
4	13.98	468	597	9-cis astaxanthin	100.08 ± 2.72
Total amount					812.34 ± 7.33

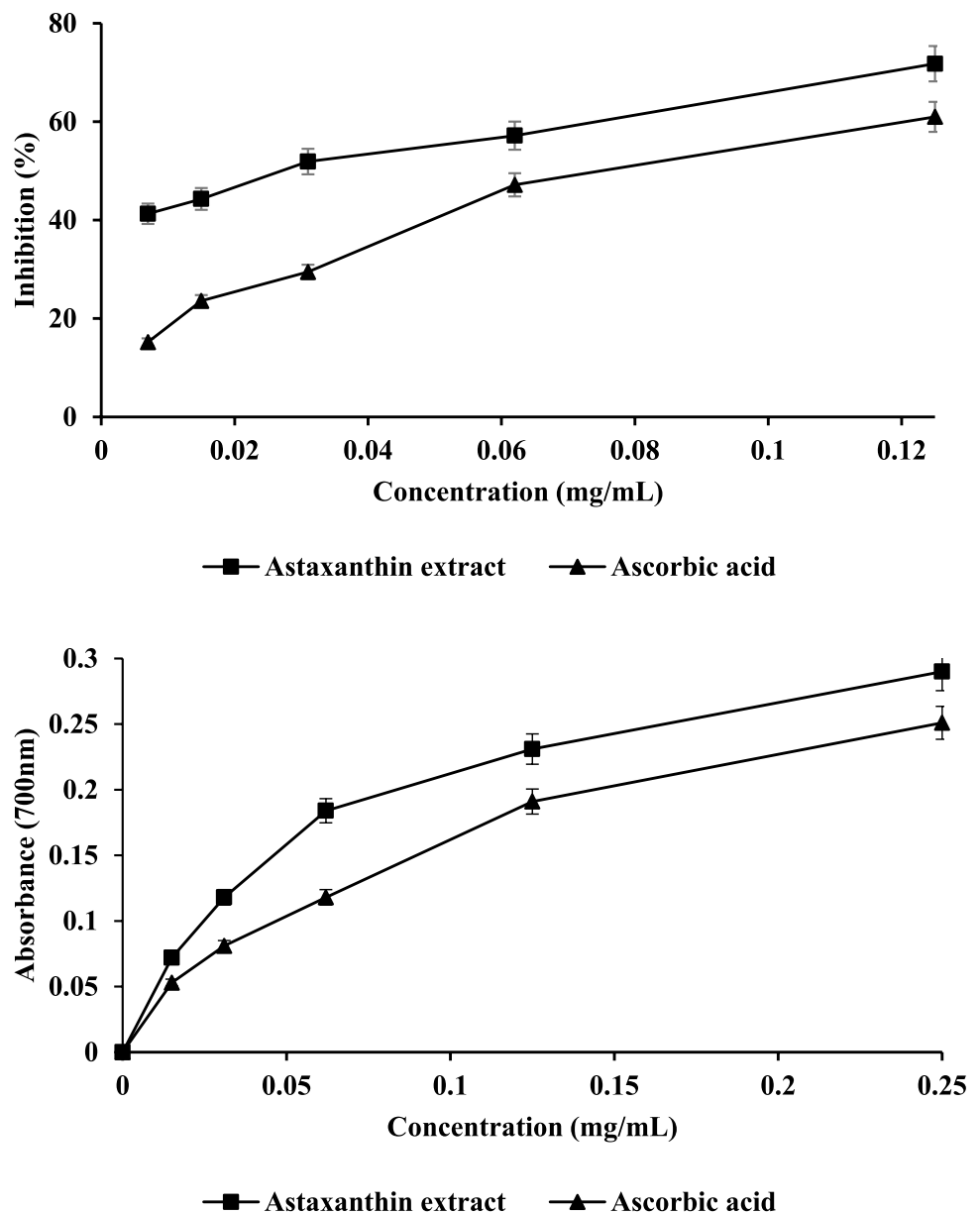
content, environmental conditions, and extraction methods (Sachindra et al. 2005). Su et al. (2018) conducted a study comparing the carotenoids found in various parts of four shrimp species cultured in China: *Penaeus monodon*, *Fenneropenaeus chinensis*, *Litopenaeus vannamei*, and *Exopalaemon carinicauda*. They discovered that all-trans-astaxanthin was the dominant carotenoid, accounting for 70.44% to 77.11% of the total carotenoids identified in the shells of these species. The levels of 13-cis-astaxanthin ranged from 10.45% to 16.95%, while 9-cis astaxanthin varied between 5.81% and 10.36%. Lastly, the content of 15-cis astaxanthin in the shells ranged from 1.67% to 3.42%. Overall, the results obtained in the present study indicate for all-trans-astaxanthin, 13-cis-astaxanthin,

9-cis-astaxanthin, and 15-cis-astaxanthin, percentages of 61.49%, 14.92%, 12.32%, and 11.27%, respectively.

Antioxidant Activity

The antioxidant activity of astaxanthin extract from the waste of *A. antennatus* was investigated using DPPH and FRAP. In both tests (Fig. 4), the antioxidant activity of astaxanthin extract increased with increasing concentrations. In the DPPH test, the inhibition exceeded 40% at only 0.005 mg/mL of astaxanthin extract and continued to increase steadily, reaching 72% with a concentration of 0.125 mg/mL. In the reducing power test, the absorbance values of the extract and ascorbic acid progressively increased with rising concentration, demonstrating a dose-dependent relationship.

Fig. 4 The antioxidant activity of astaxanthin extract with **A** DPPH and **B** PFRAP tests



An increase in absorbance is generally correlated with high antioxidant activity. At 0.25 mg/mL, the astaxanthin extract exhibited an absorbance of 0.29 ± 0.01 , surpassing ascorbic acid (0.25 ± 0.02). The concentration of astaxanthin extract required to cause 50% DPPH inhibition was almost 71% lower than the one obtained with ascorbic acid (25.42 ± 1.43 and 87.25 ± 3.15 $\mu\text{g/mL}$, respectively). These results are similar to those obtained by Chintong et al. (2019), who investigated the antioxidant activity of astaxanthin extracted from shrimp shells (*Litopenaeus vannamei*) extracted by ethanol. Their extract exhibited stronger antioxidant activity compared to ascorbic acid with IC_{50} of 17.5 ± 3.6 $\mu\text{g/mL}$. In another study, Seeger et al. (2023) found that the purified form of astaxanthin isolated from *Corynebacterium glutamicum* exhibited an EC_{50} value of 4.5 ± 0.2 $\mu\text{g/mL}$, demonstrating approximately fivefold greater antioxidant activity relative to BHT and ascorbic acid, and nearly nine-fold greater antioxidant activity compared to synthetic astaxanthin (IC_{50} of 41.9 ± 0.7 $\mu\text{g/mL}$).

Astaxanthin has excellent antioxidant properties and is considered to play an important role in the regulation of oxidative stress, inflammation, cell life cycle management, and lipid metabolism in the body, thereby positively affecting skin health, visual function, cardiovascular function, nervous system function, physical performance, and immune system efficacy (Dang et al. 2024). Carotenoids possess a polyene chain with significant conjugated double bonds, which provide antioxidant functions by neutralizing singlet oxygen and scavenging radicals to block chain reactions. Astaxanthin has a distinctive chemical configuration featuring hydroxyl and keto groups on each ionone ring, which contribute to its potent antioxidant effects (Ambati et al. 2014). Astaxanthin's distinctive molecular structure breaches the bilayer membrane, offering a powerful defense against oxidative damage. It can scavenge and neutralize reactive oxygen species (ROS) and free radicals (such as superoxide anion, hydrogen peroxide, and singlet oxygen) in both the inner and outer layers of the cellular membrane, unlike most antioxidants, which operate exclusively on either the inner (e.g., vitamin E and β -carotene) or the outer side of the membrane (e.g., vitamin C) (Sztretye et al. 2019).

Antimicrobial Activity

The antimicrobial activity of astaxanthin extracted from *A. antennatus* shrimp waste was evaluated against two Gram-positive strains (*S. aureus*, *L. monocytogenes*) and three Gram-negative bacteria (*E. coli*, *P. aeruginosa*, and *S. typhimurium*). The results are reported in Table 4. The effect of astaxanthin was more pronounced on Gram-positive than Gram-negative bacteria. This selective efficacy is likely due to structural differences in their cell envelopes; although Gram-positive bacteria possess a thicker peptidoglycan

Table 4 MIC values ($\mu\text{g/mL}$) of astaxanthin and gentamicin against Gram-positive (*S. aureus*, *L. monocytogenes*) and Gram-negative bacteria (*E. coli*, *P. aeruginosa*, and *S. typhimurium*)

Strains	Astaxanthin	Gentamicin
<i>Escherichia coli</i>	750	0.5
<i>Staphylococcus aureus</i>	25	0.25
<i>Listeria monocytogenes</i>	50	0.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1500	1
<i>Salmonella typhimurium</i>	1500	2

layer, it remains more permeable to certain compounds compared to the outer membrane in Gram-negative bacteria, which serves as a significant barrier to many antimicrobial agents (Tetteh et al. 2020). *S. aureus* was the most sensitive strain with a MIC value of 25 $\mu\text{g/mL}$, followed by *L. monocytogenes* (50 $\mu\text{g/mL}$). On the other hand, Gram-negative bacteria showed higher MIC values ranging from 750 to 1500 $\mu\text{g/mL}$. In comparison, MIC values for the reference antibiotic gentamicin were substantially lower across all tested strains, ranging from 0.25 to 2 $\mu\text{g/mL}$. These results underscore the moderate antimicrobial activity of astaxanthin when compared to conventional antibiotics. It has been reported by Karpiński et al. (2025) that astaxanthin exhibits a moderate to weak antibacterial effect. The MICs of astaxanthin for Gram-positive bacteria (*Staphylococcus*, *Streptococcus*, and *Enterococcus*) ranged from 1250 to 2500 $\mu\text{g/mL}$. The MIC values for Gram-negative bacteria were 2500 $\mu\text{g/mL}$ for *Salmonella Paratyphi A*, *Shigella flexneri*, and *Yersinia enterocolitica* and 2500–5000 $\mu\text{g/mL}$ for *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. Reyhani Poul and Yeganeh (2023) investigated the antimicrobial effect of free and encapsulated forms of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* against four Gram-positive strains (*Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus iniae*, and *Bacillus subtilis*) and three Gram-negative bacteria (*Yersinia ruckeri*, *Escherichia coli*, and *Enterobacter aerogenes*). They demonstrated that encapsulation increases the antimicrobial potential of this carotenoid with MIC values obtained with *S. aureus* and *L. monocytogenes* that were higher than in the present study (200 and 100 $\mu\text{g/mL}$, respectively). The relatively lower MIC values observed in our study, which reflect greater antimicrobial potency, may be attributed to the shrimp-waste origin of the astaxanthin and the specific extraction conditions used. However, several limitations must be acknowledged. First, the astaxanthin extract used in this study was not subjected to a purification step, which may have led to the presence of co-extracted compounds that either enhanced or interfered with its actual antimicrobial activity. Second, the findings are based solely on in vitro assays, and the effectiveness of the extract in real food systems or in vivo models remains to be validated.

Further studies are needed to isolate and characterize the active compounds, optimize delivery methods (e.g., through encapsulation), and assess potential synergistic effects with other preservatives or food processing interventions. Such investigations would be essential to determine the feasibility of applying shrimp-derived astaxanthin as a natural antimicrobial agent in the food industry.

Conclusion

An optimized method was developed for extracting astaxanthin from *A. antennatus* by-products using GRAS organic solvents, yielding higher astaxanthin content than previously reported in the literature. The use of acetone at a solid–liquid ratio of 1/20, 30 °C, and 60-min extraction time achieved the highest recovery. As data on *A. antennatus* astaxanthin isomers is limited, with most studies focused on other species, this work offers novel insight through detailed characterization. HPLC-DAD-APCI-MS analysis revealed a diverse astaxanthin profile, with all-trans-astaxanthin predominant. This study is the first to demonstrate that seasonal variation in *A. antennatus* by-product astaxanthin yield depends on geographical region, with optimal recovery in autumn, in contrast to other studies reporting summer as the peak season. The extracted astaxanthin showed strong antioxidant capacity, outperforming ascorbic acid, and exhibited moderate antimicrobial activity. From an industrial perspective, beyond applications in food, nutraceutical, and cosmetics, the extracted astaxanthin can also be proposed as a functional feed ingredient in aquaculture, particularly for red tilapia, a rapidly growing industry in Algeria.

Acknowledgements The authors thank Merck KGaA (Darmstadt, Germany) and Shimadzu Corporations for their continuous support.

Author Contribution Conceptualization: Meriem Mokhtar; Methodology: Meriem Mokhtar and Francesco Cacciola; Formal analysis and investigation: Fatima Zohra Rebita, Nour El Houda Mahdjoub, Soumia Keddari, Abdelkader El-Amine Dahou, Roberto Laganà Vinci, Katia Arena; Writing—original draft preparation: Fatima Zohra Rebita, Francesco Cacciola and Meriem Mokhtar; Writing—review and editing: Francesco Cacciola and Meriem Mokhtar; Resources: Meriem Mokhtar and Luigi Mondello; Supervision: Meriem Mokhtar and Francesco Cacciola.

Funding This research received no external funding.

Data Availability All data generated or analysed during this study are included in this published article and its supplementary information files.

Declarations

Ethics Approval This article does not contain any studies with human or animal subjects.

Consent for Publication All the authors have given approval of the final version of the manuscript.

Competing interests The authors declare no competing interests.

References

- Abuzar HR, Sharif MK, Sharif R, Arshad A, Rehman W, Ashraf A, Karim KA, Awan H, Raza W, Khalid TO Asar (2023) Potential industrial and nutritional applications of shrimp by-products: a review. *Int J Food Prop* 26(2):3407–3432
- Ambati RR, Phang SM, Ravi S, Aswathanarayana RG (2014) Astaxanthin: sources, extraction, stability, biological activities and its commercial applications-a review. *Mar Drugs* 12(1):128–152
- Asker D, Awad TS, Beppu T, Ueda K (2018) Rapid and Selective Screening Method for Isolation and Identification of Carotenoid-Producing Bacteria. *Methods Mol Biol* 1852:143–170
- Bougandoura N, Bendimerad N (2012) Effet antifongiques des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. (Nepeta) briq. *Revue des Bio Ressources* 2(1):1–7
- Britton G, Liaaen-Jensen S, Pfander H (eds) (2012) Carotenoids: handbook. Birkhäuser
- Brotsudarmo THP, Limantara L, Setiyono E, Heriyanto (2020) Structures of Astaxanthin and Their Consequences for Therapeutic Application. *Int J Food Sci* 2020(1):2156582
- Chintong S, Phatvej W, Rerk-Am U, Waiprib Y, Klaypradit W (2019) In Vitro Antioxidant, Antityrosinase, and Cytotoxic Activities of Astaxanthin from Shrimp Waste. *Antioxidants* 8(5):128
- Clinical and Laboratory Standards Institute, *M100 (33rd Ed.)* (2023).
- Dang Y, Li Z, Yu F (2024) Recent Advances in Astaxanthin as an Antioxidant in Food Applications. *Antioxidants* 13(7):879
- Dave D, Liu Y, Pohling J, Trenholm S, Murphy W (2020) Astaxanthin recovery from Atlantic shrimp (*Pandalus borealis*) processing materials. *Bioresour Technol Rep* 11:100535
- De Aguiar Saldanha Pinheiro AC, Martí-Quijal FJ, Barba FJ, Benítez-González AM, Meléndez-Martínez AJ, Castagnini JM, Tappi S, Rocculi P (2023) Pulsed electric fields (PEF) and accelerated solvent extraction (ASE) for valorization of red (*Aristeus antennatus*) and camarote (*Melicerus kerathurus*) shrimp side streams: antioxidant and HPLC evaluation of the carotenoid astaxanthin recovery. *Antioxidants* 12(2):406
- El Boumlasy S, Mangraviti D, Arena K, Cacciola F, Asraoui F, Deb-doubi A (2024) Determination of astaxanthin and astaxanthin esters in three samples of shrimp waste (*Parapenaeus longirostris*) by high performance liquid chromatography coupled photo-diode array and mass spectrometry detection. *Nat Prod Res* 38(16):2901–2908
- Fassett RG, Coombes JS (2012) Astaxanthin in Cardiovascular Health and Disease. *Molecules* 17(2):2030–2048
- Fotodimas I, Ioannou Z, Kanlis G, Sarris D, Athanasekou C (2024) Sustainable management of shrimp waste to produce high-added value carbonaceous adsorbents. *Sustainability* 16:10305
- Gao J, You J, Kang J, Nie F, Ji H, Liu S (2020) Recovery of astaxanthin from shrimp (*Penaeus vannamei*) waste by ultrasonic-assisted extraction using ionic liquid-in-water microemulsions. *Food Chem* 325:126850
- Gimeno M, Ramírez-Hernández JY, Martínez-Ibarra C, Pacheco N, García-Arrazola R, Bárzana E, Shirai K (2007) One-solvent extraction of astaxanthin from lactic acid fermented shrimp wastes. *J Agric Food Chem* 55(25):10345–10350
- Guerin M, Huntley ME, Olaizola M (2003) *Haematococcus* astaxanthin: applications for human health and nutrition. *Trends Biotechnol* 21(5):210–216

- Handayani AD, Indraswati N, Ismadji S (2008) Extraction of astaxanthin from giant tiger (*Panaeus monodon*) shrimp waste using palm oil: studies of extraction kinetics and thermodynamic. *Bioresour Technol* 99(10):4414–4419
- Haque R, Sawant PB, Sardar P, Varghese T, Xavier KM, Chadha NK, Sundaray JK, Haldar C, Jana P, Pattanaik SS (2023) Shrimp shell waste-derived astaxanthin in synergistic combination with its commercial variant augments gonadal maturation and upregulates vitellogenin gene expression of discus (*Symphysodon aequifasciatus*). *Aquaculture* 562:738828
- Hong ME, Hwang SK, Chang WS, Kim BW, Lee J, Sim SJ (2015) Enhanced autotrophic astaxanthin production from *Haematococcus pluvialis* under high temperature via heat stress-driven Haber–Weiss reaction. *Appl Microbiol Biotechnol* 99:5203–5215
- Hossain A, Shahidi F (2024) Upcycling Shellfish Waste: Distribution of Amino Acids, Minerals, and Carotenoids in Body Parts of North Atlantic Crab and Shrimp. *Foods* 13(17):2700
- Hu J, Lu W, Lv M, Wang Y, Ding R, Wang L (2019) Extraction and purification of astaxanthin from shrimp shells and the effects of different treatments on its content. *Rev Bras Farmacogn* 29:24–29
- Irshad M, Hong ME, Myint AA, Kim J, Sim SJ (2019) Safe and complete extraction of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* by efficient mechanical disruption of cyst cell wall. *Int J Food Eng* 15(10):20190128
- Jafari R, Homaei A, Ahmadi AR, Kamrani E (2023) Optimization and identification of astaxanthin esters from shrimp waste using microbial fermentation method. *Biomass Convers Biorefin* 14:22893–22908
- Karpiński TM, Ożarowski M, Paczkowska-Walendowska M, Cielecka-Piontek J (2025) Astaxanthin demonstrates moderate or weak activity against bacterial and fungal pathogens. *Food Biosci* 65:106026
- Kennouche H, Nouar A (2013) Régime alimentaire de la crevette rouge *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) (Decapoda, Penaeoidea) dans la région algéroise (Algérie centre). *Crustaceana* 86(5):553–563
- López M, Arce L, Garrido J, Ríos A, Valcárcel M (2004) Selective extraction of astaxanthin from crustaceans by use of supercritical carbon dioxide. *Talanta* 64(3):726–731
- Mokhtar M, Russo M, Cacciola F, Donato P, Giuffrida D, Riazzi A, Farnetti S, Dugo P, Mondello L (2016) Capsaicinoids and Carotenoids in *Capsicum annuum* L.: Optimization of the Extraction Method, Analytical Characterization, and Evaluation of its Biological Properties. *Food Anal Methods* 9:1381–1390
- Nishida Y, Berg PC, Shakersain B, Hecht K, Takikawa A, Tao R et al (2023) Astaxanthin: Past, Present, and Future. *Mar Drugs* 21:514
- Oslan SNH, Shoparwe NF, Yusoff AH, Rahim AA, Chang CS, Tan JS et al (2021) A Review on *Haematococcus pluvialis* Bioprocess Optimization of Green and Red Stage Culture Conditions for the Production of Natural Astaxanthin. *Biomolecules* 11(2):256
- Oyaizu M (1986) Studies on products of browning reaction. Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn J Nutr Diet* 44:307–315
- Patil AD, Kasabe PJ, Dandge PB (2022) Pharmaceutical and nutraceutical potential of natural bioactive pigment: astaxanthin. *Nat Prod Bioprospect* 12(1):25
- Pu J, Bechtel PJ, Sathivel S (2010) Extraction of shrimp astaxanthin with flaxseed oil: effects on lipid oxidation and astaxanthin degradation rates. *Biosyst Eng* 107(4):364–371
- Rao AR, Sarada R, Ravishankar GA (2007) Stabilization of astaxanthin in edible oils and its use as an antioxidant. *J Sci Food Agric* 87(6):957–965
- Rebata FZ, Hammoudi M, Mokhtar M, Saiah H, Youcefi F (2025) Optimization of Vegetable Oil Extraction of Astaxanthin from Shrimp Waste and Its Anti-Inflammatory Potential: Experimental and Computational Approaches. *Azerbaijan Pharm Pharm J* 24:11–20
- Reyhani Poul A, Yeganeh S (2023) Nanoencapsulation of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* using maltodextrin-sodium caseinate coating and evaluation of antioxidant and antibacterial activities of the carrier nanocapsules. *Iran J Food Sci Ind* 20(140):52–65.
- Sachindra NM, Bhaskar N, Mahendrakar NS (2005) Carotenoids in different body components of Indian shrimps. *J Sci Food Agric* 85:167–172
- Santos CAD, Padilha CE, Damasceno KS, Leite PI, de Araújo AC, Freitas PR, Vieira ÉA, Cordeiro AM, Sousa FC Jr, Assis CF (2021) Astaxanthin Recovery from Shrimp Residue by Solvent Ethanol Extraction Using Choline Chloride:Glycerol Deep Eutectic Solvent as Adjuvant. *J Braz Chem Soc* 32:1030–1039
- Seeger J, Wendisch VF, Henke NA (2023) Extraction and Purification of Highly Active Astaxanthin from *Corynebacterium glutamicum* Fermentation Broth. *Mar Drugs* 21:530
- Senthamil L, Kumaresan R (2015) Extraction and Identification of Astaxanthin from Shrimp Waste. *Indian J. Res. Pharm Biotechnol* 3(3):192
- Sindhu S, Sherief PM (2011) Extraction, Characterization, Antioxidant and Anti-inflammatory Properties of Carotenoids from the Shell Waste of Arabian Red Shrimp *Aristeus alcocki*, Ramadan 1938. *Open Conf. Proc. J.* 2(1):95–103.
- Stachowiak B, Szulc P (2021) Astaxanthin for the Food Industry. *Molecules* 26(9):2666
- Su F, Huang B, Liu J (2018) The carotenoids of shrimps (Decapoda: Caridea and Dendrobranchiata) cultured in China. *J Crustacean Biol* 38:523–530
- Swastawati F (2018) The changes of astaxanthin content and chemical characteristics of tiger prawn (*Penaeus monodon*) due to processing: boiling, smoking and frying. *Conf IOP Ser.: Earth. Environ Sci* 139(1):012050
- Tetteh JN, Matthäus F, Hernandez-Vargas EA (2020) A survey of within-host and between-hosts modelling for antibiotic resistance. *Biosystems* 196:104182
- Tsiaka T, Zoumpoulakis P, Sinanoglou VJ, Makris C, Heropoulos GA, Calokerinos AC (2015) Response surface methodology toward the optimization of high-energy carotenoid extraction from *Aristeus antennatus* shrimp. *Anal Chim Acta* 877:100–110
- Villalobos-Castillejos F, Cerezal-Mezquita P, Hernández-De Jesús ML, Barragán-Huerta BE (2013) Production and stability of water-dispersible astaxanthin oleoresin from *Phaffia rhodozyma*. *Int J Food Sci Technol* 48:1243–1251
- Wang L, Hu J, Lv W, Lu W, Pei D, Lv Y, Wang W, Zhang M, Ding R, Lv M (2021) Optimized extraction of astaxanthin from shrimp shells treated by biological enzyme and its separation and purification using macroporous resin. *Food Chem* 363:130369
- Yanar Y, Çelik M, Yanar M (2004) Seasonal changes in total carotenoid contents of wild marine shrimps (*Penaeus semisulcatus* and *Metapenaeus monoceros*) inhabiting the eastern Mediterranean. *Food Chem* 88(2):267–269
- Yuan JP, Chen F (1999) Isomerization of trans-Astaxanthin to cis-Isomers in Organic Solvents. *J Agric Food Chem* 47(9):3656–3660
- Zeb A, Murkovic M (2011) Carotenoids and triacylglycerols interactions during thermal oxidation of refined olive oil. *Food Chem* 127(4):1584–1593
- Zhao L, Zhao G, Chen F, Wang Z, Wu J, Hu X (2006) Different Effects of Microwave and Ultrasound on the Stability of (all-E)-Astaxanthin. *J Agric Food Chem* 54:8346–8351
- Zhou T, Wang X, Ju Y, Shi C, Kan G (2018) Stability application and research of astaxanthin integrated into food. *IOP Conf Ser Mater Sci Eng* 394:022007

Zou TB, Jia Q, Li HW, Wang CX, Wu HF (2013) Response surface methodology for ultrasound-assisted extraction of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. *Mar Drugs* 11(5):1644–1655

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Springer Nature or its licensor (e.g. a society or other partner) holds exclusive rights to this article under a publishing agreement with the author(s) or other rightsholder(s); author self-archiving of the accepted manuscript version of this article is solely governed by the terms of such publishing agreement and applicable law.

Optimization of Vegetable Oil Extraction of Astaxanthin from Shrimp Waste and Its Anti-Inflammatory Potential: Experimental and Computational Approaches

Fatima Zahra Rebata¹, Mounir Hammoudi^{2*}, Meriem Mokhtar¹, Halima Saiah³ and Fatma Youcefi⁴

¹Laboratory of Bioeconomy, Food Safety and Health, Faculty of Natural Sciences and Life, University of Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem 27000, Algeria

²Faculty of Science of Matter, University of Djilali Bounaama Khemis Miliana 044000, Algeria

³Laboratory of Natural Bioresources, Faculty of Nature and Life Sciences, Hassiba Benbouali University, 02000 Chlef, Algeria

⁴Laboratoire des Agrosystèmes Fonctionnels et Technologie des Filières Agronomiques, Tlemcen 13000, Algeria

Article History

Received:	2025-03-13
Revised:	2025-04-12
Accepted:	2025-05-05
Published:	2025-05-28

Corresponding Author*

Mounir Hammoudi

m.hammoudi@univ-dbk.m.dz

DOI: 10.61336/apj/20252403003

How to Cite the Article:

Rebata, Fatima Zahra, *et al.* " Optimization of Vegetable Oil Extraction of Astaxanthin from Shrimp Waste and Its Anti-Inflammatory Potential: Experimental and Computational Approaches." *Azerbaijan Pharmaceutical and Pharmacotherapy Journal*, vol. 24, no. 03, 2025, pp. 11-20.

Abstract: Astaxanthin, a marine-derived xanthophyll carotenoid largely distributed in shrimp waste, has attracted considerable interest for its potent anti-inflammatory properties and unique molecular structure. In this study, an eco-friendly extraction method was developed for the extraction of astaxanthin from processing waste of red blue shrimp *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) collected in Mostaganem, Algeria. The anti-inflammatory effect of astaxanthin extract was investigated *in vitro* and *in silico* two key inflammatory mediators, NF- κ B and COX-2. A maximum yield of 264.96 μ g/g of shrimp waste using sunflower oil at solid-to-liquid ratio of 1:10 at 60 °C for 60 min. The anti-inflammatory activity of the extracted astaxanthin was evaluated *in vitro* using a bovine serum albumin denaturation assay, where astaxanthin demonstrated a clear, dose-dependent inhibition, achieving 64% inhibition at 250 μ g/mL compared to 80% for the reference drug diclofenac. *In silico* molecular docking revealed strong binding affinities of astaxanthin to both the p50/p65 subunit of NF- κ B (-7.9 kcal/mol) and the COX-2 enzyme (-10.4 kcal/mol), with detailed interaction analyses highlighting key hydrophobic, hydrogen bonding, and π - σ orbital contacts that underpin its dual-target specificity. ADMET predictions indicated limited oral bioavailability due to high lipophilicity, but a favorable safety profile and low risk of cytochrome P450-mediated interactions.

Keywords: Astaxanthin, shrimp, oils, anti-inflammatory, *in vitro*, *in silico*

INTRODUCTION

Inflammation is a fundamental physiological response that acts as the body's initial defense mechanism against threats such as pathogens, cellular injury, and irritants. While acute inflammation plays a vital role in tissue repair and the restoration of normal function, persistent or chronic inflammation is associated with the development of numerous diseases, including cancer, cardiovascular illnesses, neurodegenerative disorders, and autoimmune disorders [1,2,3,4].

The complex inflammatory cascade involves multiple signaling pathways and mediators that orchestrate both the initiation and resolution of the inflammatory response. When dysregulated, these pathways contribute significantly to tissue damage and disease progression [5,6]. Current therapeutic approaches primarily rely on non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and corticosteroids, which, despite their efficacy, are associated with considerable adverse effects during

prolonged use, including gastrototoxicity, cardiovascular complications, and immunosuppression [7,8]. This therapeutic challenge has intensified the search for natural bioactive compounds with broad-spectrum anti-inflammatory properties and improved safety profiles.

Astaxanthin is a red-orange keto-carotenoid ($C_{40}H_{52}O_4$) belonging to the carotenoid family, distinguished by its extended chain of conjugated double bonds and terminal β -ionone rings, as well as the presence of both hydroxyl and ketone functional groups at positions 3 and 4 on each end of the molecule. This unique molecular structure not only imparts astaxanthin with its characteristic intense red color but also contributes to its potent antioxidant properties [9,10]. Naturally, astaxanthin is synthesized by microalgae such as *Haematococcus pluvialis*, yeast (*Xanthophyllomyces dendrorhous*), and certain bacteria, and it accumulates in aquatic animals like salmon, trout, krill, and especially crustaceans, where it is responsible for the reddish

coloration of their shells and tissues [11,12, 13,14]. In crustaceans such as shrimp, astaxanthin is predominantly found in the shell rather than the flesh, becoming visually prominent after cooking as the pigment is released from protein complexes [15].

Astaxanthin has emerged as a particularly promising anti-inflammatory agent. Characterized by its distinctive molecular structure featuring a polyene chain with 13 conjugated double bonds and terminal β -ionone, astaxanthin exhibits exceptional antioxidant capacity—significantly stronger than other carotenoids and conventional antioxidants like vitamin E and vitamin C [16,17,18]. This structural uniqueness confers astaxanthin with distinctive pharmacological properties, including remarkable stability within cellular membranes and superior reactive oxygen species (ROS) scavenging abilities [19].

The anti-inflammatory mechanisms of astaxanthin have been partially elucidated through both *in vitro* and *in vivo* experimental models [20, 21,22, 23]. Research has demonstrated that astaxanthin effectively inhibits nitric oxide (NO) production and intracellular reactive oxygen and nitrogen species (RONS) in a dose-dependent manner. Furthermore, astaxanthin suppresses the hydrogen peroxide-induced activation of nuclear factor kappa B (NF- κ B) and inhibits inducible nitric oxide synthase (iNOS) expression, consequently reducing pro-inflammatory cytokine production, including tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-1 β (IL-1 β) [24, 25].

Computational approaches have significantly advanced our understanding of astaxanthin's molecular interactions. Recent network pharmacology analyses, molecular docking simulations, and molecular dynamics studies have begun to elucidate the structural basis for astaxanthin's interactions with inflammatory mediators. However, comprehensive characterization of the specific structural features that facilitate astaxanthin's simultaneous inhibition of multiple inflammatory pathways remains incomplete. In this study, a green method was developed for the extraction of astaxanthin from shrimp by-products, then the anti-inflammatory activity was explored with *in vitro* and *in silico* tests.

MATERIALS AND METHODS

Preparation of Shrimp Waste Powder

Shrimp waste from *Aristeus antennatus*-including heads, shells, and tails-was collected from fisheries in Mostaganem (Algeria). The waste was transported to the laboratory, and was thoroughly washed several times with tap water to remove impurities, then freeze-dried. The dried material was ground and sieved to obtain a fine powder with a particle size of 0.5 mm. The resulting shrimp waste powder was stored at -4°C until further use.

Oil Extraction of Astaxanthin

Five different vegetable oils (argan, coconut, sunflower, industrial olive oil, and traditional olive oil) were evaluated for their efficiency in extracting astaxanthin.

The extraction procedure was based on the method described by Sachindra and Mahendrakar [26], with minor modifications. One gram of shrimp by-product powder was mixed with 5 mL of the selected vegetable oil. The mixture was vortexed thoroughly to ensure homogenization, then incubated in a water bath at 60°C for 1 hour. After incubation, the mixture was filtered through Whatman filter paper and subsequently centrifuged at 4,000 rpm for 20 minutes. The pigmented oil phase was carefully collected.

Based on the initial screening, the oils yielding the highest carotenoid content were selected for further optimization. Extraction parameters including solid-liquid ratio (1:5, 1:10, and 1:15 w/v), temperature (50°C , 60°C , and 70°C), and extraction time (30, 60, and 90 minutes) were assessed. This systematic approach allowed us to determine the optimal conditions for maximizing carotenoid recovery from shrimp by-products.

Spectrophotometric Determination of Astaxanthin Content

The astaxanthin content of each extract was determined using UV-Vis spectrophotometric analysis. Quantification was performed by measuring the absorbance of the samples at 476 nm, and concentrations were calculated using linear calibration equations as described by Asker *et al.* [27]. The results were expressed as micrograms of astaxanthin per gram of shrimp waste, and all measurements were carried out in triplicate.

In Vitro Anti-inflammatory Activity of Astaxanthin

The anti-inflammatory potential of astaxanthin extract was assessed using a bovine serum albumin (BSA) denaturation inhibition assay, modified from established protocols. Briefly, 1 mL aliquots of test compounds at varying concentrations were mixed with 1 mL of 1 mM BSA solution prepared in phosphate buffer (pH 6.4). After 15 minutes, the mixture was heated at $70 \pm 1^{\circ}\text{C}$ for 10 minutes. Post-cooling, the absorbance was measured at 660 nm. Diclofenac (20 mg/kg body weight) served as the reference standard [28]. The percentage inhibition of denaturation was calculated using:

$$\text{Inhibition (\%)} = ((A_{\text{sample}} - A_{\text{control}}) / A_{\text{control}}) \times 100$$

In Silico Anti-inflammatory Activity of Astaxanthin NF- κ B Inhibition by Astaxanthin

Molecular Docking Protocol: Molecular docking was performed using the online CB-Dock platform. The docking parameters were set with a grid size of $38 \times 38 \times 38$ Å and an RMSD clustering threshold of 2.0 Å. The protein structure used as the target was the p50/p65 subunit of NF- κ B (PDB: 1NFI), which plays a key role in the regulation of inflammatory processes.

Binding Pocket Analysis

Potential binding sites on the NF- κ B protein were identified using the CASTp tool. CASTp allows for the localization and characterization of protein cavities by

calculating their volumes and geometric coordinates, thus facilitating the precise targeting of possible interactions with astaxanthin.

COX-2 Inhibition by Astaxanthin

Molecular Docking Protocol: Molecular interaction modeling was performed using the CB-Dock platform with the following parameters: Crystallographic structure: Human COX-2 (PDB: 5U7N), prepared by removing water molecules and adding polar hydrogens. Grid dimensions: $38 \times 38 \times 38$ Å centered on the catalytic site (coordinates derived from CASTp analysis). Execution parameters: 10 independent docking runs with pose clustering (RMSD threshold ≤ 2.0 Å). Validation: Redocking of the native ligand (arachidonic acid) to verify protocol accuracy (RMSD < 1.5 Å).

Structural Analysis

Molecular interactions were characterized using: PyMOL (v2.5): For 3D visualization of ligand-protein complexes and rendering of key residues (e.g., TYR385, ARG120). LigPlot+ (v2.2): To generate 2D interaction diagrams, mapping hydrogen bonds, hydrophobic contacts, and van der Waals interactions. CASTp (v3.0): For quantitative analysis of binding pocket geometry, including volume calculation (Å³) and identification of catalytic residues.

ADMET Prediction

The pharmacokinetic and toxicological properties of astaxanthin were evaluated *in silico* using the SwissADME and pkCSM platforms. The parameters assessed included intestinal absorption, blood-brain barrier (BBB) permeability, and the potential for interaction with cytochrome P450 (CYP) isoenzymes. SwissADME provides robust predictions for gastrointestinal absorption (BOILED-Egg model), membrane permeability, and CYP inhibition, while pkCSM employs molecular signatures to estimate absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicity. These complementary tools enabled the generation of a comprehensive and reliable ADMET profile for astaxanthin, which is essential for evaluating its potential as an anti-inflammatory agent.

RESULTS

Astaxanthin Extraction Method Development

The extraction of astaxanthin from shrimp by-products showed a significant variation among the tested vegetable oils (table1). Sunflower oil yielded the highest carotenoid content (240 ± 14.04 µg/g), followed by coconut oil (233 ± 10.44 µg/g) and traditional olive oil (220.91 ± 9.5 µg/g). In contrast, argan oil exhibited the lowest extraction efficiency, with a yield of 133.59 ± 6.37 µg/g. Sachindra *et al.* [26] compared the extraction efficiency of different vegetable oils on astaxanthin extraction from pink shrimps (sunflower oil, groundnut oil, gingelly oil, mustard oil, soy oil, coconut oil and rice bran oil). Sunflower oil provided the highest yield of astaxanthin (26.3 µg/g). The solubility and extraction efficiency of carotenoids in vegetable oils are determined by several factors, including oil density, viscosity, and polarity [29].

Table 1: Carotenoid content in different vegetable oils from shrimp waste

Vegetable oil	Total carotenoid content (µg/g shrimp waste)
Coconut Oil	233 ±10,44
Traditional olive oil	220,91± 9,5
Industrial olive oil	182,75 ± 12,6
Argan oil	133,59 ± 6,37
Sunflower oil	240 ± 14,04

Parjikolaie *et al.* [30] demonstrated that the high efficiency of sunflower oil is mainly due to its low viscosity, which allows the oil to penetrate shrimp waste more effectively, thereby increasing the diffusion coefficient and facilitating the transfer of astaxanthin into the oil phase.

Effect of Solid-Liquid Ratio

Astaxanthin content increased as the solid-to-liquid ratio varied from 1:5 to 1:10, reaching a maximum yield of 264.96 µg/g (Figure 1A). However, further increasing the ratio to 1:20 did not enhance significantly the astaxanthin yield ($p \geq 0.05$). This suggests that a moderate solid-to-liquid ratio (1:10) optimizes extraction, likely by balancing solvent availability for efficient pigment diffusion without excessive dilution. These findings align with Parjikolaie *et al.* [30], who tested sunflower oil at liquid-to-waste ratios of 1:3, 1:6, and 1:9 (v/w), observing peak extraction at 1:9. Higher ratios improve solvent penetration into cell matrices, enhancing mass transfer coefficients [31]. Similarly, Zhao *et al.* [32] demonstrated that increasing the oil-to-waste ratio directly improved both pigment extraction rates and oil recovery, identifying it as a critical parameter for maximizing astaxanthin yield. Collectively, these studies underscore the importance of optimizing solvent-to-solid ratios to achieve efficient carotenoid extraction.

Effect of Extraction Temperature

The effect of extraction temperature on astaxanthin yield is clearly depicted in Figure 1B. Astaxanthin content increased from approximately 223.39 µg/g at 50 °C to a maximum of 264.96 µg/g at 60 °C, indicating that moderate heating enhances the efficiency of pigment extraction, likely by improving solvent penetration and mass transfer with the reduction of oil viscosity [33]. However, a further increase in temperature to 70 °C resulted in a marked decline in astaxanthin content to around 88.50 µg/g. This sharp decrease at higher temperature suggests significant thermal degradation of astaxanthin, which is known to be sensitive to heat. It could be explained also by the formation of peroxides, resulting from the oxidation of the oil at high temperatures and the consequent reduction in the quality and quantity of extracted compounds [34]. These results underscore the importance of optimizing extraction temperature, with 60 °C identified as the optimal condition for maximizing astaxanthin recovery while minimizing pigment loss due to thermal breakdown.

Effect of the Extraction Time

Figure 1C demonstrates the critical role of extraction time on astaxanthin yield from shrimp by-products. The results

reveal a pronounced time-dependent pattern, with astaxanthin content increasing from 102.75 $\mu\text{g/g}$ at 30 minutes to a maximum yield of approximately 264.96 $\mu\text{g/g}$ at 60 minutes. However, extending the extraction time to 90 minutes resulted in a significant decline in astaxanthin content to approximately 122.88 $\mu\text{g/g}$. This suggests that optimal extraction requires sufficient time for complete solvent penetration and pigment solubilization, but excessive exposure time under heating temperatures leads to the oxidation and the degradation of the extracted astaxanthin. These findings highlight the importance of precise time control during the extraction process, with 60 minutes representing the optimal extraction duration that balances maximum pigment recovery with minimal degradation.

Salazar-González *et al.* [35] showed that a longer contact time between the matrix and the sunflower oil resulted in greater interaction between the particles, and consequently, a higher concentration of carotenoids in the extracts. Rudi *et al.* [36] Confirmed in their study that after 180 min at a temperature of 60°C, the astaxanthin extract in vegetable oils oxidises due to the oxidation of the fatty acids. In addition, vegetable oil begins to oxidise after a certain period of time, and the loss of volatile elements can lead to a decrease in the amount of oil containing astaxanthin. Ahmadkelayeh *et al.* [37] confirmed that at higher temperatures, the astaxanthin yield starts to decrease with increasing extraction time.

In Vitro Anti-Inflammatory Effect of Astaxanthin Extract

In the *in vitro* model for assessing anti-inflammatory activity, the inhibitory effect of astaxanthin extracted from shrimp waste and diclofenac of albumin denaturation was assessed. Both compounds demonstrate a clear concentration-dependent inhibitory effect across the tested range (15-250 $\mu\text{g/mL}$) (Figure 2). Diclofenac, a standard non-steroidal anti-inflammatory drug, consistently exhibits superior inhibitory potential compared to astaxanthin. At 250 $\mu\text{g/mL}$, diclofenac achieved approximately 80% inhibition, whereas astaxanthin reached approximately 64% inhibition. The dose-response curves for both compounds show similar patterns, with steeper increases observed at lower concentrations (15-50 $\mu\text{g/mL}$) followed by more gradual increases at higher concentrations, suggesting approaching saturation kinetics. These findings indicate that while astaxanthin possesses significant anti-denaturation activity, its potency remains lower than that of the reference drug diclofenac. Nevertheless, the substantial inhibitory effect demonstrated by astaxanthin suggests its potential as a natural anti-inflammatory agent, which could be particularly valuable in contexts where alternatives to synthetic drugs are sought.

Astaxanthin has demonstrated significant potential in alleviating both chronic and acute inflammation across a range of diseases. Experimental studies have shown its beneficial effects in models of neurodegenerative disorders, diabetes, gastrointestinal diseases, renal inflammation, as well as skin and eye conditions

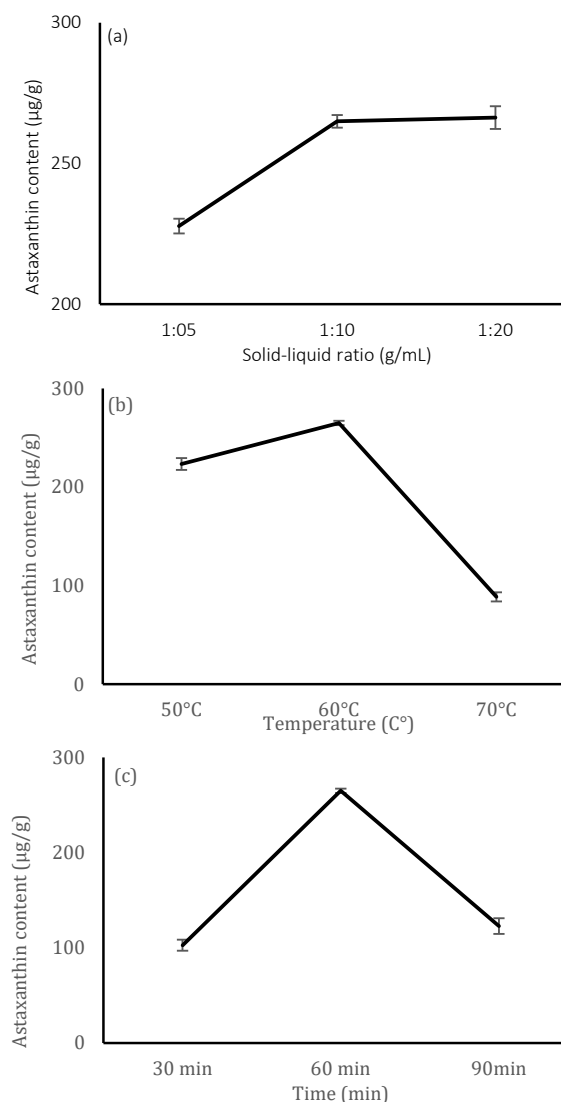


Figure 1: The effect of (A) solid-liquid ratio, (B) temperature, and (C) the extraction time on astaxanthin content

[21,38,25]. These findings highlight astaxanthin as a promising candidate for the treatment of inflammation-related diseases. Many *in vitro* and *in vivo* studies have demonstrated the anti-inflammatory effects of astaxanthin [22, 24,39,40]. *In vitro*, astaxanthin has been shown to suppress the production of key pro-inflammatory mediators such as nitric oxide (NO), prostaglandin E2 (PGE2), and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in macrophage cell lines, indicating a dose-dependent anti-inflammatory effect by directly inhibiting inducible nitric oxide synthase (iNOS) activity and inflammatory cytokine production [39,41]. *In vivo* studies, such as those involving endotoxin-induced uveitis in rats, confirmed that astaxanthin reduces inflammatory cell infiltration and protein concentration in aqueous humor, with effects comparable to prednisolone. Additionally, astaxanthin modulates inflammatory pathways by suppressing NF- κB activation, which downregulates pro-inflammatory genes including IL-1 β , IL-6, TNF- α , iNOS,

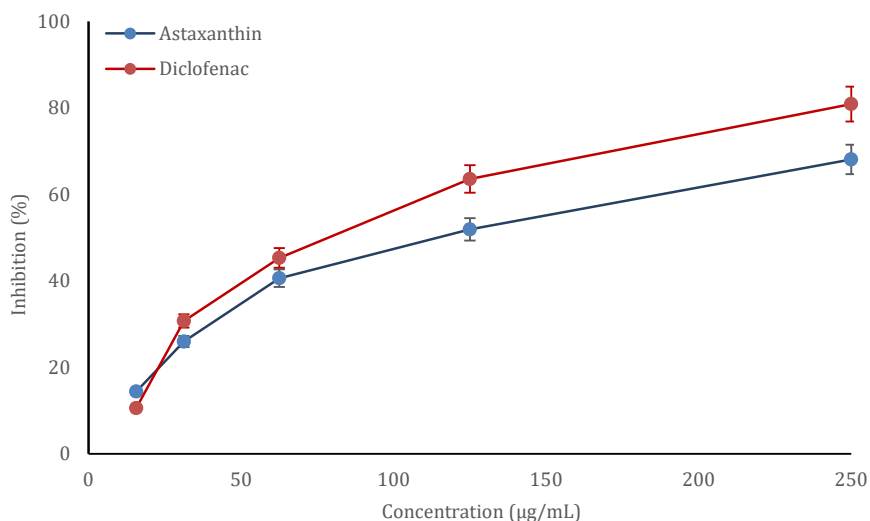


Figure 2: Dose-Dependent Inhibition of Albumin Denaturation by Astaxanthin and Diclofenac

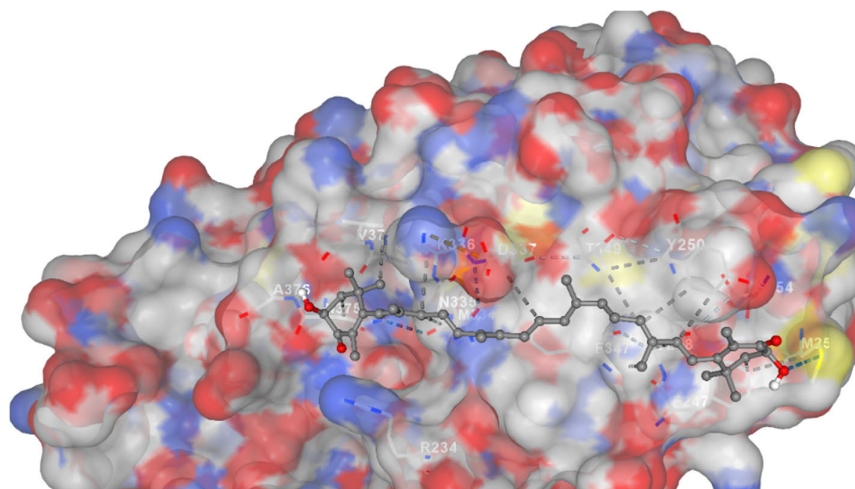


Figure 3: Selectivity of the C4 Pocket-Surface Representation of the NF-κB - Astaxanthin

and cyclooxygenase-2 (COX-2), contributing to its anti-inflammatory and antioxidant properties [22, 24, 39,40].

In Silico Anti-inflammatory Activity of Astaxanthin Structural and Mechanistic Analysis of NF-κB Inhibition

Selectivity of the C4 Pocket: The C4 pocket of NF-κB, characterized by its reduced volume (462 Å³), exhibits exceptional affinity for astaxanthin, as demonstrated by a Vina docking score of -7.9 kcal/mol (Figure 3). This remarkable selectivity is explained by several key factors: **Optimal Steric Complementarity:** The rigid structure of astaxanthin, featuring 13 conjugated double bonds, fits precisely into the compact geometry of the C4 pocket. This molecular adaptation minimizes steric clashes and maximizes favorable contacts, supporting stable ligand binding. **Targeted Hydrophobic Environment:** The PHE247 and VAL248 residues create a "hydrophobic nest" ideally suited for anchoring the β-ionone rings of astaxanthin. The measured interatomic distances (3.8–4.2 Å) fall within the optimal range for van der Waals

interactions, significantly contributing to the stability of the complex. These *in silico* findings are consistent with experimental studies showing that astaxanthin effectively inhibits NF-κB activation and downstream inflammatory signaling by stabilizing interactions within key regulatory sites of the protein [25, 26]. Molecular docking and network pharmacology approaches have further confirmed the strong binding affinity of astaxanthin for NF-κB and related inflammatory targets, supporting its potential as a chemopreventive and anti-inflammatory agent [41, 42].

Dynamics of Hydrogen Bonding

The analysis of polar interactions reveals two critical hydrogen bonds that contribute significantly to the stability and specificity of astaxanthin binding within the C4 pocket of NF-κB. **ASN335 (2.9 Å):** This hydrogen bond exhibits a donor-acceptor angle of 150–160°, which is close to the theoretical ideal of 180°, indicating maximal bonding strength and optimal geometric alignment. **LYS336 (3.1 Å):** This interaction further stabilizes the

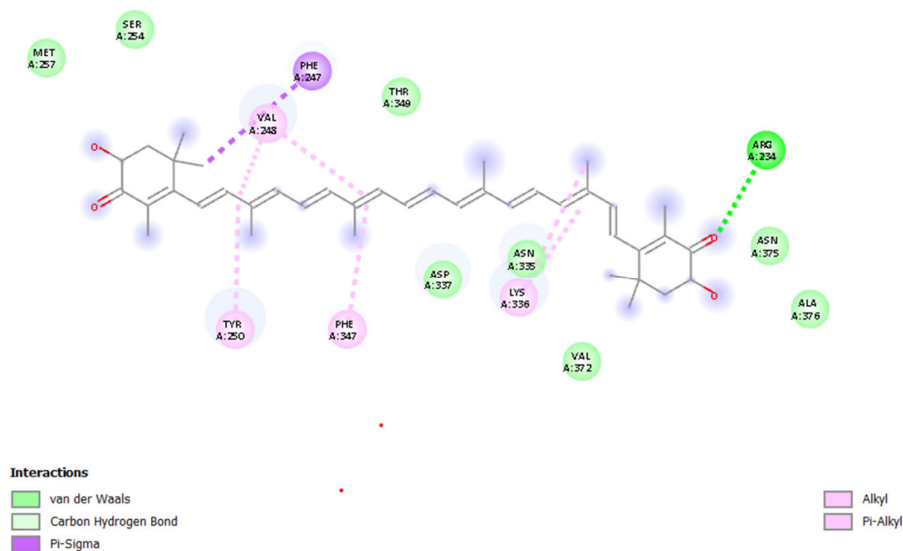


Figure 4: Hydrogen Bonding Network Between Astaxanthin and Binding Site Residues

hydroxyl groups of astaxanthin, reinforcing the overall ligand-protein complex. Each hydrogen bond is estimated to contribute approximately -1.5 kcal/mol to the total binding energy, representing nearly 40% of the overall binding affinity. This substantial energetic input underscores the importance of specific polar interactions in the high-affinity and selective inhibition of NF- κ B by astaxanthin (Figure 4).

These findings are consistent with the unique molecular features of astaxanthin, such as its hydroxyl and keto groups, which are known to facilitate strong hydrogen bonding and contribute to its potent antioxidant and anti-inflammatory properties [41, 43]. By stabilizing key residues within the NF- κ B binding pocket, astaxanthin effectively modulates inflammatory signaling pathways, supporting its therapeutic potential in inflammation-related disorders [41].

A particularly notable finding involves the atypical π - σ orbital interaction between the β -ionone ring of astaxanthin and the PHE347 residue of NF- κ B: Partial overlap of the π orbitals (astaxanthin's conjugated double bonds) and σ orbitals (PHE347 side chain) generates additional stabilization energy estimated at -1.2 kcal/mol. This non-covalent interaction arises from the unique electronic configuration of astaxanthin's polyene backbone and the aromatic system of phenylalanine. Such interactions are rarely observed in protein-ligand complexes and may explain astaxanthin's unique specificity for NF- κ B compared to other carotenoids (e.g., β -carotene or lutein). The spatial alignment required for π - σ overlap likely imposes strict geometric constraints that favor astaxanthin's rigid, planar structure over more flexible analogues. This interaction, combined with the hydrophobic anchoring and hydrogen bonding described earlier, contributes to a binding mode that sterically blocks NF- κ B's DNA-binding domain. Experimental studies have shown that astaxanthin suppresses NF- κ B nuclear translocation and downstream pro-inflammatory

cytokine production (e.g., TNF- α , IL-6) in models of oxidative stress, consistent with the *in-silico* prediction of high-affinity binding to the p50/p65 subunit [44].

COX-2 Inhibition by Astaxanthin

Characterization of Binding Sites: CB-Dock analysis identified five potential interaction sites on COX-2, with the three most prominent sites summarized in table 2. The C1 pocket exhibited the highest binding affinity (-10.4 kcal/mol), surpassing the reference inhibitor celecoxib (-9.1 kcal/mol) (figure 5). Its large volume ($4893 \text{ \AA}^3$) accommodates astaxanthin's extended polyene backbone, similar to its interaction with stromelysin-1's S1 pocket. Hydrophobic residues (PHE154, HIS117) dominate the binding interface, with hydrogen bonds stabilizing the β -ionone rings. The compact C4 pocket ($736 \text{ \AA}^3$) engages astaxanthin via π - σ interactions with PHE86, analogous to its interaction with human COX-2 His386/Asn382. This site's geometry favors rigid ligands like astaxanthin over flexible analogues (e.g., β -carotene), explaining its selectivity. Astaxanthin's dual binding to C1 (catalytic site) and C4 (allosteric site) suggests a multi-mechanistic inhibition profile, comparable to bisdemethoxycurcumin's dual NF- κ B/COX-2 targeting. The large C1 pocket may enable broader anti-inflammatory effects by blocking both substrate entry (arachidonic acid) and prostaglandin release, as observed in rotenone-induced inflammation models. Astaxanthin's extended conformation spans the COX-2 catalytic cleft, sterically hindering arachidonic acid access while stabilizing the inactive enzyme conformation. This dual action-competitive inhibition (C1) and allosteric modulation (C4)-could explain its superior efficacy over single-target NSAIDs in preclinical models.

Molecular Interactions

Dominant Hydrophobic Interactions Residues: PHE154, PHE86, and PHE88 form a hydrophobic network with

astaxanthin's polyene backbone. Distances: 3.7–4.2 Å, optimal for van der Waals interactions. Energetic Contribution: ~62% of the total binding energy (–6.5 kcal/mol), highlighting their critical role in stabilizing the complex. Crucial Hydrogen Bond Residue: HIS117 forms a hydrogen bond with the terminal keto group of astaxanthin. Geometry: Bond distance = 2.8 Å; donor-acceptor angle = 158° (near the ideal 180°). This interaction anchors the polar end of astaxanthin, preventing displacement during catalytic activity. Unique Ph-Sigma (π - σ) Interaction Residue: ALA87 interacts with the β -ionone ring of astaxanthin via partial orbital overlap. Distance: 4.3 Å, within the range for non-covalent stabilization. Rare in protein-ligand complexes, this interaction enhances molecular specificity, differentiating astaxanthin from structurally similar carotenoids like β -carotene.

Pharmacokinetic Properties of Astaxanthin

The intestinal absorption rate of 74.6% listed in the table 3 appears optimistic compared to literature findings [45]. Multiple studies indicate significantly lower

bioavailability, with research showing that only approximately 10% of orally ingested astaxanthin is actually absorbed by the body, while 90% passes through the intestinal tract. Other sources place oral bioavailability in the range of 10-50% due to astaxanthin's poor water solubility and limited absorption by intestinal epithelial cells [46,47]. While the table indicates low BBB penetration (0.392), more recent research suggests astaxanthin can indeed cross the blood-brain barrier, as demonstrated by Grimmig *et al.* [48]. This ability to reach brain tissue contributes to its neuroprotective properties and potential applications in cognitive health.

The "Non" designation for CYP3A4 metabolism aligns with findings that astaxanthin does not undergo autoinduction of metabolism via CYP3A4 or CYP2B6.

Table 2: Key parameters of identified binding pockets

Site	Score (kcal/mol)	Volume (Å ³)	Key Residues	Interaction Types
C1	-10.4	4893	PHE154, HIS117	Hydrophobic, Hydrogen bond
C4	-9.4	736	PHE86, ALA87	Hydrophobic, π - σ
C2	-9.2	2451	PHE88, PRO110	Hydrophobic

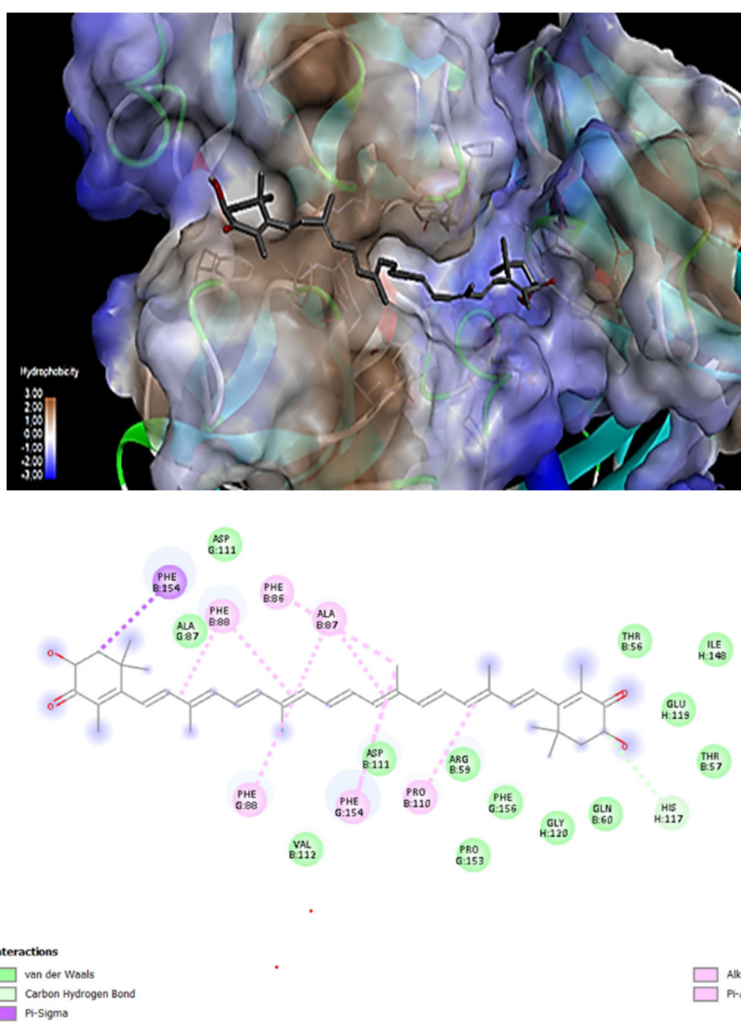


Figure 5: The three-dimensional interactions within the C1 binding site of COX-2

Table 3: Pharmacokinetic Properties of Astaxanthin

Parameter	Value	Interpretation
Intestinal absorption	74.6%	Limited by high lipophilicity
BBB permeability	0.392	Low brain penetration
CYP3A4 metabolism	No	Low risk of interactions

Table 4: Comparative Molecular Specificity

Compound	NF-κB Score (kcal/mol)	COX-2 Score (kcal/mol)	Specificity Profile
Astaxanthin	-7.9	-10.4	Dual-target
Curcumin	-6.8	-7.3	Moderate
Quercetin	-6.5	-8.1	Single-target predominant

However, research shows astaxanthin is metabolized into several compounds including 3-hydroxy-4-oxo-beta-ionol, 3-hydroxy-4-oxo-beta-ionone, and their reduced forms [49].

The two violations noted (MW = 596 g/mol and LogP = 9.696) are consistent with search results showing astaxanthin's molecular weight as 596.84 g/mol [50]. These characteristics contribute to its poor oral bioavailability and have led to research on enhanced delivery systems such as nanoemulsions, liposomes, and lipid-based formulations to improve bioavailability [51, 52]. Studies have shown that lipid-based formulations can significantly enhance astaxanthin bioavailability by up to 3.7-fold compared to standard formulations. After absorption, astaxanthin reaches maximum blood concentration at approximately 2 hours and has an elimination half-life of around 16 hours (15.9±5.3h) [53]. These findings confirm that while astaxanthin has promising biological activities, its pharmacokinetic profile presents challenges for oral administration that require advanced formulation strategies to overcome.

Comparative Molecular Specificity

Comparative analysis against other natural inhibitors (Table 4) reveals astaxanthin's superior binding characteristics and dual-targeting capability. The molecular structure of astaxanthin reveals its extended conjugated polyene chain with terminal ionone rings, which confers optimal spatial configuration for simultaneously engaging both NF-κB and COX-2 binding pockets. This unique structural arrangement enables the formation of critical hydrogen bonds and hydrophobic interactions with key residues in both targets. Astaxanthin's exceptional dual specificity, combined with its superior binding affinity for both inflammatory mediators, positions it as a prime candidate for developing next-generation anti-inflammatory therapeutics with enhanced efficacy and reduced side effects compared to conventional single-target approaches.

CONCLUSION

This study demonstrates the successful valorization of shrimp processing waste (*Aristeus antennatus*) from Algerian fisheries into a sustainable source of astaxanthin, leveraging eco-friendly extraction methods with vegetable oils. Sunflower oil emerged as the most effective solvent, yielding 264.96 µg/g astaxanthin under optimized conditions (1:10 solid-liquid ratio, 60°C, 60

minutes). The extracted astaxanthin exhibited significant anti-inflammatory activity in vitro, inhibiting bovine serum albumin denaturation by 64% at 250 µg/mL, with molecular docking revealing dual-target inhibition of NF-κB (-7.9 kcal/mol) and COX-2 (-10.4 kcal/mol). Structural analyses identified key interactions, including hydrophobic anchoring, hydrogen bonding, and π-σ orbital contacts, underpinning its mechanism of action.

REFERENCES

- [1.] Alur, İ. "Low-grade inflammation: A familiar factor in cardiovascular diseases." *JACC: Basic to Translational Science*, vol. 8, no. 11, 2023, p. 1475.
- [2.] Chaudhary, R., et al. "Chronic stress predisposes to the aggravation of inflammation in autoimmune diseases with focus on rheumatoid arthritis and psoriasis." *International Immunopharmacology*, vol. 125, 2023, p. 111046.
- [3.] Holub, M., et al. "Systemic inflammation in severe infectious diseases." *Frontiers in Immunology*, vol. 15, 2024, p. 1483682.
- [4.] Chavda, V. P., Feehan, J., and Apostolopoulos, V. "Inflammation: The cause of all diseases." *Cells*, vol. 13, no. 22, 2024, p. 1906, <https://doi.org/10.3390/cells13221906>.
- [5.] Choi, J., Chudziak, J., and Lee, J. H. "Bi-directional regulation between inflammation and stem cells in the respiratory tract." *Journal of Cell Science*, vol. 137, no. 21, 2024, p. jcs263413, <https://doi.org/10.1242/jcs.263413>.
- [6.] Meza Monge, K., et al. "Targeting inflammation after hemorrhagic shock as a molecular and experimental journey to improve outcomes: A review." *Cureus*, vol. 17, no. 1, 2025, p. e77776, <https://doi.org/10.7759/cureus.77776>.
- [7.] Sohail, R., et al. "Effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and gastroprotective NSAIDs on the gastrointestinal tract: A narrative review." *Cureus*, vol. 15, no. 4, 2023, p. e37080, <https://doi.org/10.7759/cureus.37080>.
- [8.] Bech-Dreves, A., et al. "Cardiovascular safety of using non-steroidal anti-inflammatory drugs for gout: A Danish nationwide case-crossover study." *Rheumatology International*, vol. 44, no. 6, 2024, pp. 1061-1069, <https://doi.org/10.1007/s00296-024-05584-7>.
- [9.] Nishida, Y., et al. "Astaxanthin: Past, present, and future." *Marine Drugs*, vol. 21, no. 10, 2023, p. 514, <https://doi.org/10.3390/md21100514>.
- [10.] Nair, A., et al. "Astaxanthin as a king of ketocarotenoids: Structure, synthesis, accumulation, bioavailability, and antioxidant properties." *Marine Drugs*, vol. 21, no. 3, 2023, p. 176.
- [11.] Debnath, T., et al. "Astaxanthin from microalgae: A review on structure, biosynthesis, production strategies and application." *Food Research International*, vol. 176, 2024, p. 113841, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113841>.
- [12.] Stachowiak, B., and Szulc, P. "Astaxanthin for the food industry." *Molecules*, vol. 26, no. 9, 2021, p. 2666, <https://doi.org/10.3390/molecules26092666>.
- [13.] Elbahnaswy, S., and Elshopakey, G. E. "Recent progress in practical applications of a potential carotenoid astaxanthin in aquaculture industry: A review." *Fish Physiology and Biochemistry*, vol. 50, no. 1, 2024, pp. 97-126, <https://doi.org/10.1007/s10695-022-01167-0>.
- [14.] Bøe, M. R., et al. "Effect of natural carotenoids obtained from *Haematococcus pluvialis*, *Paracoccus carotinifaciens*, and *Phaffia rhodozyma* on flesh pigmentation and related biochemical mechanisms in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.)." *Aquaculture*, vol. 596, 2025, p. 741743.

- [15.] Lee, C. C. "Astaxanthin: Sources, properties and benefits." *Handbook of Food Bioactive Ingredients: Properties and Applications*, Springer International Publishing, 2023, pp. 687–727.
- [16.] Kumar, S., *et al.* "Astaxanthin: A super antioxidant from microalgae and its therapeutic potential." *Journal of Basic Microbiology*, vol. 62, no. 9, 2022, pp. 1064–1082.
- [17.] Snell, T. W., and Carberry, J. "Astaxanthin bioactivity is determined by stereoisomer composition and extraction method." *Nutrients*, vol. 14, no. 7, 2022, p. 1522.
- [18.] Fong, C. W. "The origin of the antioxidant capacity against oxidative and photooxidative stress, singlet oxygen reactivity, and the excited states in skin and eye related diseases of astaxanthin and other carotenoids, isomers and esters in the cell membrane and cytosol." Doctoral dissertation, Eigenenergy, Adelaide, 2023.
- [19.] Chae, S. Y., *et al.* "Surface-mediated high antioxidant and anti-inflammatory effects of astaxanthin-loaded ultrathin graphene oxide film that inhibits the overproduction of intracellular reactive oxygen species." *Biomaterials Research*, vol. 26, no. 1, 2022, p. 30.
- [20.] Ohgami, K., *et al.* "Effects of astaxanthin on lipopolysaccharide-induced inflammation in vitro and in vivo." *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, vol. 44, no. 6, 2003, pp. 2694–2701.
- [21.] Chang, M. X., and F. Xiong. "Astaxanthin and its effects in inflammatory responses and inflammation-associated diseases: recent advances and future directions." *Molecules*, vol. 25, no. 22, 2020, p. 5342.
- [22.] Li, H., *et al.* "The effect of astaxanthin on inflammation in hyperosmolarity of experimental dry eye model in vitro and in vivo." *Experimental Eye Research*, vol. 197, 2020, p. 108113.
- [23.] Sharma, K., *et al.* "Astaxanthin ameliorates behavioral and biochemical alterations in in-vitro and in-vivo model of neuropathic pain." *Neuroscience Letters*, vol. 674, 2018, pp. 162–170.
- [24.] Pereira, C.P.M., *et al.* "Antioxidant and anti-inflammatory mechanisms of action of astaxanthin in cardiovascular diseases." *International Journal of Molecular Medicine*, vol. 47, no. 1, 2021, pp. 37–48.
- [25.] Wu, Y., *et al.* "Astaxanthin targets IL-6 and alleviates the LPS-induced adverse inflammatory response of macrophages." *Food & Function*, vol. 15, no. 8, 2024, pp. 4207–4222.
- [26.] Sachindra, N.M., and N.S. Mahendrakar. "Process optimization for extraction of carotenoids from shrimp waste with vegetable oils." *Bioresource Technology*, vol. 96, no. 10, 2005, pp. 1195–1200.
- [27.] Asker, D., *et al.* "Rapid and selective screening method for isolation and identification of carotenoid-producing bacteria." *Microbial Carotenoids: Methods and Protocols*, 2018, pp. 143–170.
- [28.] Rajamohan, R., *et al.* "Significantly improving the solubility and anti-inflammatory activity of fenofibric acid with native and methyl-substituted beta-cyclodextrins via complexation." *Scientific Reports*, vol. 15, no. 1, 2025, pp. 1–17.
- [29.] Teramukai, K., *et al.* "Effective extraction of carotenoids from brown seaweeds and vegetable leaves with edible oils." *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, vol. 60, 2020, p. 102302.
- [30.] Parjikolaie, B. R., *et al.* "Influence of green solvent extraction on carotenoid yield from shrimp (*Pandalus borealis*) processing waste." *Journal of Food Engineering*, vol. 155, 2015, pp. 22–28.
- [31.] Silva, D. M. E., *et al.* "Chemical characteristics and antioxidant activity of astaxanthin extracted from shrimp residues using soybean oil." *Journal of the Brazilian Chemical Society*, vol. 32, no. 6, 2021, pp. 1277–1285.
- [32.] Zhao, T., *et al.* "Research progress on extraction, biological activities and delivery systems of natural astaxanthin." *Trends in Food Science & Technology*, 2019.
- [33.] Goula, A. M., *et al.* "Green ultrasound-assisted extraction of carotenoids from pomegranate wastes using vegetable oils." *Ultrasonics Sonochemistry*, vol. 34, 2017, pp. 821–830.
- [34.] Rao, A. R., *et al.* "Stabilization of astaxanthin in edible oils and its use as an antioxidant." *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 87, no. 6, 2007, pp. 957–965.
- [35.] Salazar-Gonzalez, C., *et al.* "Green extraction of carotenoids from bee pollen using sunflower oil: evaluation of time and matrix-solvent ratio." *Chem Eng*, vol. 75, 2019, pp. 541–546.
- [36.] Rudi, L., *et al.* "Haematococcus pluvialis derived astaxanthin—a powerful bio-active compound for vegetable oils." *One Health and Risk Management*, vol. 4, 2024, pp. 4–12.
- [37.] Ahmadvakeyeh, S., *et al.* "Extraction of astaxanthin from Atlantic shrimp by-products using fish oil: Process optimization and operational parameter effects." *Journal of Cleaner Production*, vol. 371, 2022, p. 133609.
- [38.] Kohandel, Z., *et al.* "Anti-inflammatory action of astaxanthin and its use in the treatment of various diseases." *Biomedicine & Pharmacotherapy*, vol. 145, 2022, p. 112179.
- [39.] Lee, J., *et al.* "Antioxidant and anti-inflammatory effects of astaxanthin on gastrointestinal diseases." *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 23, no. 24, 2022, p. 15471.
- [40.] Hwang, S. H., *et al.* "Chemical transformation of astaxanthin from Haematococcus pluvialis improves its antioxidative and anti-inflammatory activities." *ACS Omega*, vol. 5, no. 30, 2020, pp. 19120–19130.
- [41.] Jiang, J., *et al.* "Protective effect of astaxanthin on chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome in rat through modulating NF- κ B signaling pathway." *Translational Andrology and Urology*, vol. 13, no. 9, 2024, p. 1971.
- [42.] Kavitha, K., *et al.* "Astaxanthin inhibits NF- κ B and Wnt/ β -catenin signaling pathways via inactivation of Erk/MAPK and PI3K/Akt to induce intrinsic apoptosis in a hamster model of oral cancer." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, vol. 1830, no. 10, 2013, pp. 4433–4444.
- [43.] Davinelli, S., *et al.* "Astaxanthin as a modulator of Nrf2, NF- κ B, and their crosstalk: Molecular mechanisms and possible clinical applications." *Molecules*, vol. 27, no. 2, 2022, p. 502, <https://doi.org/10.3390/molecules27020502>.
- [44.] Barizi, A. Z. M., *et al.* "Network pharmacology and molecular docking approaches of astaxanthin (ATX) against atherosclerosis." *Pharmacognosy Research*, vol. 16, no. 3, 2024.
- [45.] Brotosudarmo, T. H. P., *et al.* "Structures of astaxanthin and their consequences for therapeutic application." *International Journal of Food Science*, vol. 2020, no. 1, 2020, p. 2156582.
- [46.] Kuehu, D. L., *et al.* "Effects of heat-induced oxidative stress and astaxanthin on the NF- κ B, NFE2L2 and PPAR α transcription factors and cytoprotective capacity in the thymus of broilers." *Current Issues in Molecular Biology*, vol. 46, no. 8, 2024, pp. 9215–9233, <https://doi.org/10.3390/cimb46080544>.
- [47.] Yasuda, R., *et al.* "Astaxanthin attenuated the stress-induced intestinal motility disorder via altering the gut microbiota." *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, vol. 93, no. 5, 2023, pp. 427–437, <https://doi.org/10.1024/0300-9831/a000756>.

- [48.] Khayyal, M. T., *et al.* "Comparative pharmacokinetic study of standard astaxanthin and its micellar formulation in healthy male volunteers." *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, vol. 49, no. 4, 2024, pp. 467–475, <https://doi.org/10.1007/s13318-024-00898-0>.
- [49.] Abdol Wahab, N. R., *et al.* "Nanocarrier system: State-of-the-art in oral delivery of astaxanthin." *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, vol. 11, no. 9, 2022, p. 1676, <https://doi.org/10.3390/antiox11091676>.
- [50.] Grimmig, B., *et al.* "Neuroprotective mechanisms of astaxanthin: A potential therapeutic role in preserving cognitive function in age and neurodegeneration." *Geroscience*, vol. 39, 2017, pp. 19–32.
- [51.] Kistler, A., *et al.* "Metabolism and CYP-inducer properties of astaxanthin in man and primary human hepatocytes." *Archives of Toxicology*, vol. 75, no. 11-12, 2002, pp. 665–675, <https://doi.org/10.1007/s00204-001-0287-5>.
- [52.] Aribisala, J. O., *et al.* "Astaxanthin-mediated bacterial lethality: Evidence from oxidative stress contribution and molecular dynamics simulation." *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, vol. 2021, 2021, p. 7159652, <https://doi.org/10.1155/2021/7159652>.
- [53.] Odeberg, J. M., *et al.* "Oral bioavailability of the antioxidant astaxanthin in humans is enhanced by incorporation of lipid-based formulations." *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 19, no. 4, 2003, pp. 299–304.