

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



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة والحياة

DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA MER ET DE L'AQUACULTURE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

Bachir assia et sayah salima

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER

EN HYDROBIOLOGIE MARINE ET CONTINENTALE

Spécialité : Bio Ressources Marine

THÈME

Etude du potentiel antioxydant et antimicrobien
d'hydrolysats protéiques de crevette rouge
Aristeus antennatus (Risso, 1816)

Soutenu publiquement le 11/09/2019

Devant le jury

President	M ^{me} BENZIDANE. D	MAA	Université de Mostaganem
Examineurs	M ^{er} . BELBACHIR. N	MCB	Université de Mostaganem
Encadreur	M ^{elle} . OULHIZ. A	MCB	Université de Mostaganem

Année universitaire : 2018/2019

A decorative border with intricate floral and scrollwork patterns in a dark red color, framing the entire page. The border is symmetrical and features a central crest-like element at the top.

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier ALLAH le tout puissant et Miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

En seconde lieu, Nous tenons aussi à présenter nos sincères remerciements à notre encadreur M^{lle}. OULHIZ Aïcha pour la confiance qu'il nous a accordée en acceptant cet encadrement, pour sa disponibilité tout au long de l'élaboration de ce mémoire, pour son aide, ses critiques et ses suggestions, et surtout pour sa patience dans la correction de ce mémoire.

On tient, aussi, à remercier M^{me} BENZIDANE Dhiba, enseignant chercheur au département des sciences de la mer et l'aquaculture (FSNV/UMAB), d'avoir accepté de présider le jury ;

On remercie également Mr BELBACHIR Nor-Eddine, maître de conférences enseignant chercheur au département des sciences de la mer et l'aquaculture (FSNV/UMAB), d'avoir aimablement accepté examiner et d'apporter ses remarques à ce modeste travail.

A tous les enseignants de la faculté des sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Mostaganem, qui ont fait de nous ce que nous sommes aujourd'hui ; nous vous remercions du fond du cœur pour vos conseils lors de la conception de ce travail et le fait de nous avoir mis en contact avec notre superviseur.

Nous remercions s'adressent également aux techniciens de laboratoire et aux personnes qui ont participé à réaliser ce travail.

Enfin nous remercions tous les étudiants de la promotion de spécialité de Bioressources Marines (2018-2019)

A vous tous, un grand Merci.



♥ *Dédicace* ♥

*Je dédie ce modeste travail pour me très
cher maman, qui m'a soutenu et encouragé
durant ces années d'études , que Dieu le
protège.*

A mes files (issrae ,sondoss).

*Amon marie(mansour) que Dieu le
protège.*

A mes frères

(fatima,djamila,mohamed ,karim).

A tout les membres de ma famille.

*A tous mes amis qui m'ont toujours
encouragé.*

A tous ceux que j'aime .

Merci !

SALIMA



♣ **Dédicace** ♣

*J'ai le grand plaisir de dédié ce modeste
travail :*

*A mon père pour son soutien et son amour,
à*

*Ma mère je dédier ma vie toute entière car
Sans toi je n'aurai été ce que je suis
aujourd'hui.*

*A mes frères et sœur Mouhamed, Meriem,
Wafaa,
Souad, et Sofiane.*

*A mes meilleur amis Saida, Djahida
Moments tout au long de la réalisation de
ce travail et de notre cursus universitaire.
A toute*

*La promotion MASTER de. Spécialité de
bio ressource marine*

Assia

Résumé

Les coproduits de la mer représentent des ressources biologique valorisables pouvant générer différents molécules d'intérêt nutritionnels et biologiques. Dans ce travaille nous avons essayé de donner une valeur aux coproduits de la crevette rouge *Aristeus antennatus* (Risso, 1816), en produisant une fraction protéique par hydrolyse enzymatique en milieux acide. Nous avons étudié par la suite les comportements et les effets antimicrobiens et antioxydants de l'hydrolysats protéique préparée.

Les résultats obtenus relèvent l'efficacité de l'hydrolysats contre les germes pathogènes. Cet effet antimicrobien a été démontré en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition de l'hydrolysats protéique contre plusieurs souches bactériennes.

Aussi l'ensemble des testes d'activité antioxydante de l'hydrolysats protéique de la crevette a démontré un effet assez attirant.

Mot clé: Crevette rouge *Aristeus antennatus*, coproduits, hydrolysats protéique, pouvoir antimicrobien et antioxydant.

Abstract

The co-products of the sea represent valuable biological resources that can generate different molecules of nutritional and biological interest. In this work we have tried to give a value to the co-products of the red shrimp *Aristeus antennatus* (Risso, 1816), by producing a protein fraction by enzymatic hydrolysis in acidic media. Subsequently, we studied the antimicrobial and antioxidant behaviors and effects of the prepared protein hydrolyzate.

The results obtained indicate the effectiveness of the hydrolyzate against pathogenic germs. This antimicrobial effect has been demonstrated by measuring the diameter of the zone of inhibition of the protein hydrolyzate against several bacterial strains.

Also the whole of the tests of antioxidant activity of the protein hydrolyzate of the shrimp demonstrated a rather attractive effect.

Keyword : Red shrimp *Aristeus antennatus*, shrimp co-products, protein hydrolyzate, antimicrobial, antioxidant

ملخص

تمثل المنتجات المشتركة للبحر موارد بيولوجية قيمة يمكن أن تولد جزيئات مختلفة ذات أهمية غذائية وبيولوجية. حاولنا في هذا العمل إعطاء قيمة للمنتجات المشتركة للروبيان الأحمر *Aristeus antennatus* (Risso 1816)، عن طريق إنتاج جزء من البروتين عن طريق التحلل المائي الأنزيمي في الوسائط الحمضية. في وقت لاحق ، درسنا السلوكيات المضادة للميكروبات ومضادات الأكسدة وآثار هيدليزيت البروتين المحضر.

تشير النتائج التي تم الحصول عليها إلى فعالية التحلل من الجراثيم المسببة للأمراض. لقد تم إثبات هذا التأثير المضاد للميكروبات من خلال قياس قطر منطقة تثبيط البروتين يتحلل ضد سلالات بكتيرية عديدة. كما أظهرت اختبارات نشاط مضادات الأكسدة في بروتين هيدروليزات الروبيان تأثيراً ذو أهمية معتبرة.

الكلمة الأساسية: الروبيان الأحمر *Aristeus antennatus* ، المنتجات المشتركة ، بروتين هيدروليزات ، خصائص مضادة للميكروبات ومضادات الأكسدة.

Sommaire

Introduction..... 1

Chapitre I : partie bibliographie

I. Généralité sur la crevette rouge..... 4

I.1. Aperçu sur les crustacés 4

I. 2. Présentation de l'espèce étudiée..... 4

I.2.1. La morphologie externe d'Aristeus antennatus..... 5

I.2.2.Taxonomie 5

I.2.3 .Habitat et répartition géographique..... 6

I. 3. Les coproduits de crevette..... 6

I. 3.1.Hydrolysats..... 8

I.3.2. l'hydrolyse..... 8

I.3.2.1. L'hydrolyse enzymatique..... 8

I.3.2.1.1. L'autolyse..... 8

I.3.2.1.2.L'hétérolyse..... 8

I. 3.2.2. L'hydrolyse chimique..... 9

I.3.3.Intérêt nutritionnel des hydrolysats..... 9

I.3.3.1 La fraction protéique 9

I.3.3.2.Les autres fractions..... 10

I.4.Application des hydrolysats..... 10

I.4.1.Applications en alimentation humaine..... 10

I.4.2.Application dans le domaine agroalimentaire..... 10

I.4.2.3.Support de milieu de la culture microbienne..... 11

I.5.Intérêt fonctionnel..... 11

I.5.1. Les peptides bioactifs..... 11

I.5.2.Peptides antibactériens..... 11

I.5.3.1.Peptides antioxydants..... 12

I.5.3.2.Peptides anti-hypertenseurs..... 12

I.5.4.Autres bio activités..... 12

I.6 Les antioxydants.....	13
I.6.1 Généralités sur les antioxydants.....	13
I.6.2 Mécanisme d'action des radicaux libres.....	13
I.6.3 Principales sources d'antioxydants.....	14
I.6.3.1 Les médicaments.....	14
I.6.3.2 Les vitamines.....	14
I.6.3.2.1. <i>Acide ascorbique (Vitamine C)</i>	14
I.6.3.2.2. <i>La vitamine E</i>	14
I.6.3.2.3. <i>β-carotène</i>	15
I.6.3.3 Les antioxydants naturels.....	15

Chapitre II : Matériel et méthodes

II. 1 matériel biologique	18
II.2 L'extraction de l'hydrolysat protéique.....	18
II.4. Pouvoir antimicrobien d'hydrolysat protéique.....	20
II.4.1. Les souches pathogènes utilisées	20
II.4.2. Le renouvellement et l'enrichissement des souches pathogènes	20
II.4.3. méthode de diffusion en puits AWDT	21
II.5. Activité antioxydant d'hydrolysat protéique.....	23
II.5.1. Capacité de piégeage du 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH) radicaux.....	23
II.5.2. Activité antioxydant totale (TAC).....	24

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1 Identifications des propriétés fonctionnelles de l'hydrolysat protéique.....	26
III.2.2. activité antimicrobien.....	26
III.2.1. Pouvoir piégeage des radicaux libres (DPPH) de l'hydrolysat protéique.....	28
III.2. activité antioxydant totale (TAC).....	29
Conclusion.....	31

Liste de Tableau

Tableau 01: Les différents produits à haute valeur ajoutée issus de co-produits de crevette et leur utilisation.....	7
Tableau 02: Le pouvoir antimicrobien d'hydrolysats enzymatiques contre des souches pathogènes et leur diamètre d'inhibition en mm.....	26

Liste des figures

Figure 01 : Aspect général d' <i>Aristeus antennatus</i> (Risso,1816).....	4
Figure 02 :Schéma représentatif de l'anatomie externe d' <i>Aristeus antennatus</i> (inQuero et Vayne, 2001).....	5
Figure 03 : Répartition géographique de crevette rouge (Risso, 1816).....	6
Figure 04 :Les co-produits après décorticage de la crevette (carapaces + têtes) (Boualem et Hocine, 2018).....	7
Figure 05 : Les classes de peptides bioactifs.....	13
Figure 06 :Les étapes de l'hydrolyse enzymatique des coproduits de crevette.....	19
Figure 07 :Hydrolysate enzymatique de la Crevette rouge.....	20
Figure 08:Le renouvellement des souches microbiennes utilisées.....	21
Figure 09: Mise en évidence de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion en puits.....	22
Figure 10 : Résultat du test de piégeage des radicaux libres le DPPH.....	23
Figure 11 : aspect des zones d'inhibition de la croissance microbienne en présence de l'hydrolysate protéique par la méthode de diffusion en puits.....	27
Figure 12 :Capacité d'élimination des radicaux DPPH par la solution d'hydrolysate protéique. (Hyd.ENZ) comparait à l'acide ascorbique(A.Asc).....	28
Figure13 : La croissance de l'activité antioxydante totale de hydrolysate enzymatique comparée au contrôle (Acide ascorbique) en fonction de différentes concentrations..	29

Liste des abréviations

AWDT : Agar Well Diffusion Test.

C° : Degré(s) Celsius.

H : Heure.

LB: Milieu Luria-Bertani

pH : Potentiel hydrogène.

V : Volume.

N: Normalité.

ml : Millilitres.

HCl : Chlorure d'hydrogène.

TAC : capacité antioxydant total.

H₂SO₄ : Acide Sulfurique

Introduction

La crevette constitue le produit le plus valorisé sur le marché mondial. Destinée en sa totalité à l'alimentation humaine, la partie comestible représente près de 60% du poids de la crevette entière. La production de cette dernière augmente chaque année et les échanges internationaux sur ce produit de la mer sont les plus importants.

Les déchets des crevettes renferment plusieurs substances méritant d'être valorisées : On peut citer entre autres protéines, lipides, chitine et des éléments minéraux... (Heu *et al.*, 2003). La valorisation des coproduits permettrait, en plus du respect de l'environnement, elle consiste à les transformer de façon à ce qu'ils deviennent des matières premières ou des matières intermédiaires pour la production des autres produits.

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

L'objectif de ce travail est d'étudier les activités antioxydant et antimicrobiennes contre des germes pathogènes de l'hydrolysate protéique obtenue par hydrolyse enzymatique des coproduits de la crevette rouge *Aristeus antennatus* (Risso,1816). L'hydrolysate protéique sous forme de poudre lyophilisée à été préparée par Tifour et Douara(2018) au niveau du laboratoire de Protection, Valorisation des Ressources Marine Littoral et Systématique Moléculaire.

Le présent travail se divise en trois chapitres :

- Chapitre I concerne la recherche bibliographique. Ce premier chapitre est consacré à donner un aperçu générale sur l'espèce étudiée : la crevette rouge d'*Aristeus antennatus* (Risso,1816), suivi par une présentation générale sur les coproduits des produits de la mer crevette et les hydrolysats.
- Le deuxième chapitre concerne la partie expérimentale. Ce chapitre représente de façon générale la méthodologie utilisée par Tifour et Douara (2018) pour l'extraction d'hydrolysate protéique, pour ensuite étudier le pouvoir antibactérien et antioxydant de l'hydrolysate protéique obtenue.

Introduction

- Chapitre III, concerne la partie résultats et discussion. Dans ce chapitre nous présentons et discutons les résultats obtenu du pouvoir antimicrobien et antioxydant d'hydrolysats protéiques de la crevette rouge et nous avons terminé notre travail par une conclusion général.

CHAPITRE I

Partie

bibliographique

I. Généralité sur la crevette rouge

I.1. Aperçu sur les crustacés

Les crustacés constituent l'une des classes de l'embranchement des arthropodes, celle-ci regroupant les animaux au corps segmenté. Les 45000 espèces qui composent la classe présentent une grande diversité de formes et de modes de vies : on trouve des espèces marines, des espèces d'eau douce et des espèces terrestres. Elles sont libres et mobiles (comme le Tourteau) ou bien fixées sur un support inerte ou vivant (comme le Pouce-pied, la balane). Certains Crustacés sont parasites ou commensales d'autres animaux. (Kherraz, 2006). Le corps des crustacés, bien qu'il ait subi différentes réductions et fusions, est essentiellement composé d'une tête avec cinq paires d'appendices et d'un tronc avec de nombreux segments. Chaque segment est relié aux autres par des membranes. Ces organismes se distinguent des autres classes par la présence de deux paires d'antennes par de nombreux appendices et par des branchies, pour extraire l'oxygène de l'eau indispensable à leur respiration. (Grimes *et al.*, 2004)

I.2. Présentation de l'espèce étudiée

Cette étude porte sur un crustacé de la famille des Aristeidae appelé commune et en Algérie sous le nom de crevette rouge *Aristeus antennatus* (Risso, 1816). L'espèce est une crevette de couleur rouge, son abdomen est plus long que le céphalothorax et le corps est comprimé latéralement. L'espèce présente un dimorphisme sexuel : par la taille d'une part, où les adultes femelles sont beaucoup plus grandes que les mâles et d'autre part, par un rostre court chez le mâle dépassant les yeux mais pas l'extrémité distale de l'écaille antennaire contrairement aux femelles (Zariquiey-Álvarez, 1968). (Fig. 1)



Figure 01 : Aspect général d'*Aristeus antennatus* (Risso, 1816)

I.2.1. La morphologie externe de la crevette rouge

La crevette rouge présente un corps constitué d'une tête soudée au thorax (céphalothorax) et d'un abdomen. La tête comprend les yeux, des antennules, un rostre et des pièces buccales (mandibules, maxilles et maxillipèdes) destinées à broyer la nourriture, le thorax porte cinq paires de péréiopodes qui permettent la reptation et la nutrition (Ragonese *et al.*, 1994). L'abdomen est muni de cinq paires de pléopodes (des appendices servant à la nage) et se termine par un telson ; leur carapace sépare l'abdomen de la tête céphalothoracique qui soutient aussi des antennes très développées (Fig.2).

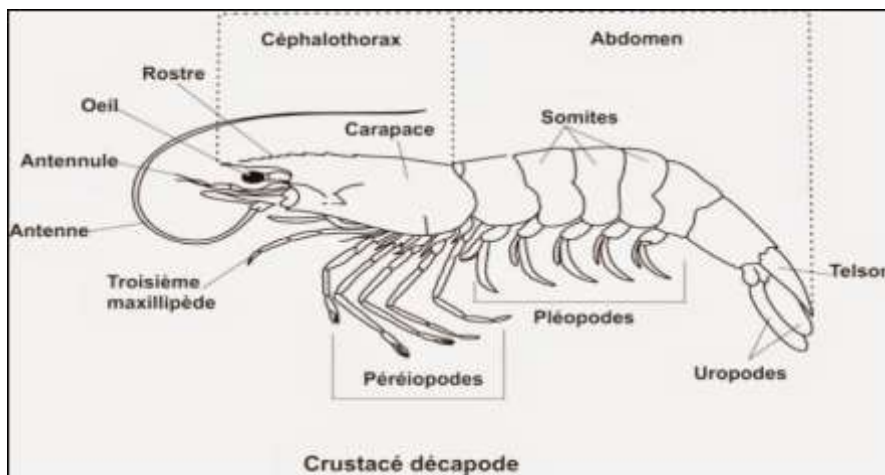


Figure 02 : Schéma représentatif de l'anatomie externe d'*Aristeus antennatus* (inQuero et Vayne, 2001).

I.2.2. Taxonomie

Cette espèce est connue sous des noms vernaculaires qui diffèrent d'une région à une autre : **Grand Bretagne** : bleue and Redshrimp ; **France** : Crevette rouge ; **Espagne** : gambarosada ; **En Algérie** en appelle : Hamera, Camroun (قمرون) par rapport à sa forme lunaire, et Gamba dans l'extrême ouest algérien et crevette rouge.

La taxonomie de l'espèce étudiée est :

- **Embranchement** : *Arthropodes*
- **Classe**: *Crustacés*
- **Sous Classe**: *Malacostracés*
- **Ordre**: *Décapodes*
- **InfraOrdre**: *Penaeidea*
- **Famille**: *Aristoeidaes*
- **Genre**: *Aristeus*
- **Espèce**: *Antennatus* (Risso,1816)

I.2.4. Habitat et répartition géographique

La répartition géographique de cette espèce, comprend tout le bassin méditerranéen et les côtes atlantiques et l’océan Indien (Fig.3) Elle fréquente les fonds de vases, de sables exploités essentiellement par les chalutiers (Grimset *al.*, 2004).

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

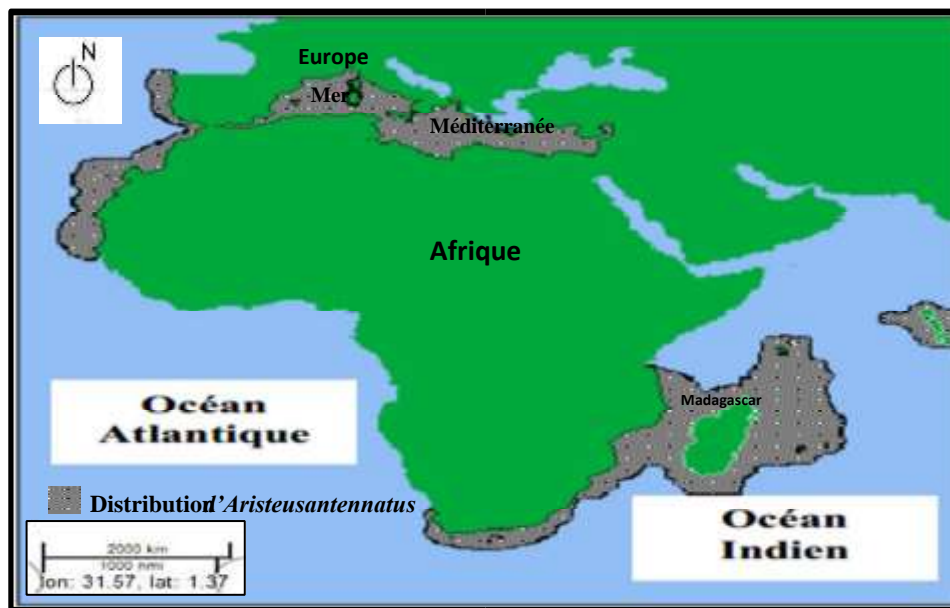


Figure 03 : Répartition géographique de crevette rouge (Risso,1816)

I.3. Les coproduits marins (crevette)

Les coproduits sont définis comme les parties non utilisées et récupérables lors des opérations traditionnelles de production. Ils sont issus de la transformation des poissons et sont constitués des têtes, des viscères, de la chute de parage (filetage), de la peau, de l’écaille, des arêtes et des queues sont générées. Pour les crevettes, ils engendrent les têtes, la carapace et la queue fig.4. Les coproduits marins constituent 30 à 60% des produits entiers et leur valorisation a attiré depuis plusieurs années l’attention des industriels pour un souci de rentabilité économique et de développement durable. En effet, ces matières renferment de nombreuses molécules valorisables notamment des protéines (Ibrahim *et al.*, 1999 ; Heu *et al.*,2003), lipides (Dumayet *al.*, 2006 ; Dumay, 2006), minéraux, vitamines (Heu *et al.*, 2003), ainsi que d’autres composés bioactifs (Kim *et al.*, 2008), bénéfiques à la santé humaine et

animale. Les principaux produits à haute valeur ajoutée pouvant être engendrés par les coproduits de crevette et leur utilisation sont résumés dans le tableau 01



Figure 04 : Les co-produits après décorticage de la crevette (carapaces + têtes)
(Boualem et Hocine, 2018)

Tableau 1 : Les différents produits à haute valeur ajoutée issus de co-produits de crevette et leur utilisation.

	Intérêt	Domaine d'utilisation
Chitine et chitosan	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
Phosphatase alcaline	Enzymatique	Biotechnologie
Eléments minéraux	Nutrition	Agroalimentaire
Huile riche en $\omega 3$ et $\omega 6$	Nutrition Bioactivité	Agroalimentaire Nutraceutique

I.3.1 Hydrolysats

Les hydrolysats sont l'aboutissement de la digestion partielle des protéines par hydrolyse protéolytique. Ils ont alors généralement une bonne digestibilité et une haute qualité nutritive. Les hydrolysats sont produits sous l'action des enzymes endogènes des poissons ou des co-produits (autolysats), ou par addition d'enzymes exogènes (hétéro lysats) (Dumay, 2006).

I.3.2. l'hydrolyse

L'hydrolyse est caractérisée par le degré d'hydrolyse qui correspond au pourcentage de liaisons peptique coupées par rapport au nombre total de liaisons peptidiques de la protéine en modifiant leur taille et leur charge. L'hydrolyse modifie les propriétés fonctionnelles et nutritionnelles des protéines (digestibilité, solubilité, réduction de l'allergénicité, développement d'activités biologiques...) (mullaly et all.,1995.)

I.3.2.1. L'hydrolyse enzymatique

L'hydrolyse enzymatique est une des voies de valorisation des coproduits intéressante car elle permet de concentrer et valoriser les protéines d'origine marine sous la forme de farines solubles avec une granulométrie très fine. Les hydrolysats peuvent être obtenus de deux manières :

a) L'autolyse

l'hydrolyse est opérée par les enzymes protéolytiques endogènes présentes dans le système digestif (pepsine, trypsine, chymotrypsine) ainsi que le tissu musculaire (cathépsine) (Raaet al., 1982). Les bactéries naturellement présentes dans le mélange participent également dans cette protéolyse. Ce procédé est appliqué depuis l'antiquité pour la fabrication des sauces de poisson en Asie. Néanmoins, il est difficile à contrôler car ce procédé dépend de nombreux facteurs : espèce, saison, quantité d'enzymes, température... (Benjakul et Morrissey, 1997).

b) L'hétérolyse

Dans le cas de l'hétérolyse, des enzymes exogènes sont ajoutées et les conditions de réaction sont contrôlées. De nombreuses protéases sont utilisées dans l'industrie alimentaire, elles sont d'origine végétale (papaïne, bromélaïne), animale (trypsine, chymotrypsine, pepsine) ou microbienne et sont classées parmi les exopeptidases ou les endopeptidases. Ce procédé permet un meilleur contrôle de la réaction générant ainsi des hydrolysats reproductibles en terme de qualité (Liasetet al., 2000). Le choix de l'enzyme dépend des propriétés recherchées et de son coût, dans la majorité des cas, à l'échelle industrielle ce sont des mélanges

enzymatiques qui sont utilisés. Les enzymes d'origine microbienne extraites de bactéries, de levures ou de moisissures est de plus en plus utilisées du fait de leur faible coût de production et de leur diversité (Gupta *et al.*, 2002).

I.3.2.2.L'hydrolyse chimique

L'hydrolyse chimique est la plus ancienne et peut être conduite en milieu acide (HCl ou H₂SO₄) ou en milieu alcalin (NaOH) dans des hautes températures de l'ordre de 100°C et des fortes concentrations de soude ou d'acide. La production du chlorure de sodium pendant l'hydrolyse acide, contribue à la conservation du produit. Cependant, cette hydrolyse a l'inconvénient de décomposer partiellement certains acides aminés et de détruire complètement le tryptophane. Alors que, l'hydrolyse alcaline provoque la destruction de la cystéine, la cystine, l'arginine et la méthionine. Il sera donc nécessaire de compléter l'hydrolysats chimique par des acides aminés (Nguyen, 2009).

I.3.2 Intérêt nutritionnel des hydrolysats

I.3.2.1 La fraction protéique

Les hydrolysats de co-produits d'origine aquatique sont riches en protéines. Ils contiennent en moyenne 60 à 90% de protéines (Choi *et al.*, 2009) et sont donc plus riches que les farines de poisson. La composition en protéines dépend directement des organes utilise pour l'hydrolyse. Par exemple, la peau est connue pour générer beaucoup de peptides de col-lagene et de gélatine. Les protéines musculaires contenues dans les co-produits peuvent être classées en deux catégories. La première concerne les protéines extracellulaires. Ces protéines sont généralement insolubles en milieu salin. Il s'agit du collagène, de l'élastine, de la kératine, de la réticuline et de la connectine. La seconde catégorie regroupe les protéines intracellulaires dont la fraction myogène soluble et la fraction myofibrillaire. La fraction myogène soluble regroupe les protéines sarcoplasmiques et représente 15 à 22% des protéines totales.

L'hydrolyse enzymatique va conduire à un mélange d'acides aminés, de peptides et de protéines. La composition et la taille des peptides obtenus sont directement liées aux enzymes utilisées et aux conditions d'hydrolyse. La forte teneur en protéines résulte du fait que les protéines sont solubilisées pendant l'hydrolyse et que les éléments insolubles sont évacués par la centrifugation (Chalamaiah *et al.*, 2010).

I.3.2.2 Les autres fractions

Les hydrolysats sont pauvres en lipides car cette fraction est éliminée par centrifugation en même temps que les protéines insolubles. Ils contiennent en général moins de 5% de lipides. Néanmoins, certains auteurs rapportent des taux en lipides bien plus importants dans certains hydrolysats, allant jusqu'à 50% (Yin *et al.*, 2010).

Les hydrolysats contiennent également une fraction azotée composée des molécules non protéiques, de faible masse moléculaire et soluble dans l'eau. Il s'agit des acides aminés libres, des nucléotides ainsi que leurs dérivés, comme la créatinine, l'oxyde de triméthylamine et l'ammoniac. En n, la fraction minérale représente entre 0,45 et 26% (Bhaskar et Mahendrakar, 2008; Nilsanget *al.*, 2005).

I.4. Application des hydrolysats**I.4.1. Applications en alimentation humaine**

Les protéines hydrolysées présentent des avantages en nutrition car elles ont une meilleure digestibilité. Les hydrolysats ont ainsi des applications en alimentation humaine notamment pour des personnes en malnutrition (Nesseet *al.*, 2014) ou présentant des dysfonctionnements du système digestif (Clemente, 2000). Ils sont également utilisés pour leurs propriétés bioactives et rentrent ainsi dans la composition de nombreux produits nutraceutiques visant par exemple à améliorer le transit intestinal (Marchbank *et al.*, 2009), à favoriser la prise de masse musculaire chez les sportifs (Nesseet *al.*, 2014), ou à améliorer la mémoire et les fonctions cognitives (Guerard, 2010). Néanmoins, les hydrolysats protéiques sont connus pour leur amertume due à la présence de peptides hydrolytiques hydrophobes et/ou d'acides aminés libres amers.

I.4.2. Application dans le domaine agroalimentaire

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

I.4.3. Support de milieu de la culture microbienne

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

I.5. Intérêt fonctionnel**a) Les peptides bioactifs**

Les peptides bioactifs sont des fragments de protéines pouvant être libérés par hydrolyse enzymatique lors de la digestion gastro-intestinale ou lors des traitements industriels. En général, les peptides bioactifs comptent 2 à 20 acides aminés. Ils peuvent exercer de nombreuses activités sur les systèmes immunitaire, cardio-vasculaire, gastro-intestinal et nerveux via différents modes d'action (Fig.5). De nombreuses activités biologiques ont été mises en évidence : activité antioxydante, activité anti-hypertensive, activité antibactérienne, activité antifongique, antithrombotique.. (Kim et Mendis, 2006).

b) Peptides antibactériens

Les organismes marins, notamment les mollusques et les crustacés produisent de nombreux peptides antibactériens endogènes. Parmi les effecteurs du système immunitaire inné, les peptides antimicrobiens sont l'un des composants majeurs. Les peptides antimicrobiens sont donc présents naturellement chez les organismes marins soit de manière constitutive dans les cellules sécrétrices, soit de manière induite lors d'une infection. Il existe une grande variété de séquences, mais la majorité d'entre eux répondent à trois critères (Wang et Wang, 2004 ; Hancock et Sahl, 2006) :

1. Ces peptides possèdent entre 6 et 50 acides aminés.
2. Ils sont cationiques et présentent une charge nette comprise entre +2 et +9.
3. Ce sont des peptides amphiphiles dotés d'une forte proportion d'acides aminés hydrophobes.

Des peptides antimicrobiens peuvent également être générés par hydrolyse enzymatique (Liu *et al.*, 2008; Reddy *et al.*, 2004; Bulet *et al.*, 2004).

c) Peptides antioxydants

Des peptides ayant des activités antioxydants in vitro ont été identifiés dans de nombreux poissons, mollusques et crustacés. Les mécanismes d'action de ces peptides ne sont pas élucidés. Néanmoins, il a été démontré que ces peptides pouvaient agir en tant que piègeurs de radicaux libres, chélateurs de métaux ou bien sur la peroxydation des lipides. On suppose que les acides aminés comme les acides amines aromatiques (Phénylalanine, Tyrosine, Tryptophane), l'Histidine avec son noyau aromatique et les acides amines avec une fonction thiol (Cysteine) peuvent agir en tant que donneurs de protons (Mendis *et al.*, 2005b).

d) Peptides anti-hypertenseurs

Des peptides anti-hypertenseurs ont été identifiés dans de nombreux hydrolysats de poissons, mollusques et crustacés. L'un des principaux mécanismes est l'inhibition de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE). Cette enzyme joue un rôle dans la régulation de la pression sanguine en catalysant la conversion de l'angiotensine I en angiotensine II, un agent vasoconstricteur, et en inactivant la bradikinine qui est un agent vasodilatateur (Erdos et Skidgel, 1987).

e) Autres bio activités

D'autres fonctionnalités biologiques ont pu être démontrées dans les hydrolysats. Nasri *et al.*, (2012) ont mis en évidence 4 peptides ayant une activité anti thrombotique. Il s'agit des peptides LCR, HCF, CLC et LCRR identifiés chez le Gobi (*Zosterisessor ophiocephalus*). Des peptides pourraient avoir des applications dans la prévention de l'ostéoporose, des caries dentaires, de l'hypertension ou de l'anémie (Korhonen et Pihlanto, 2006). De nombreux peptides d'origine marine possèdent des actions intéressantes (anti-diabète, anti-obésité ...) pour la prévention du syndrome métabolique (Ko et Jeon, 2013).

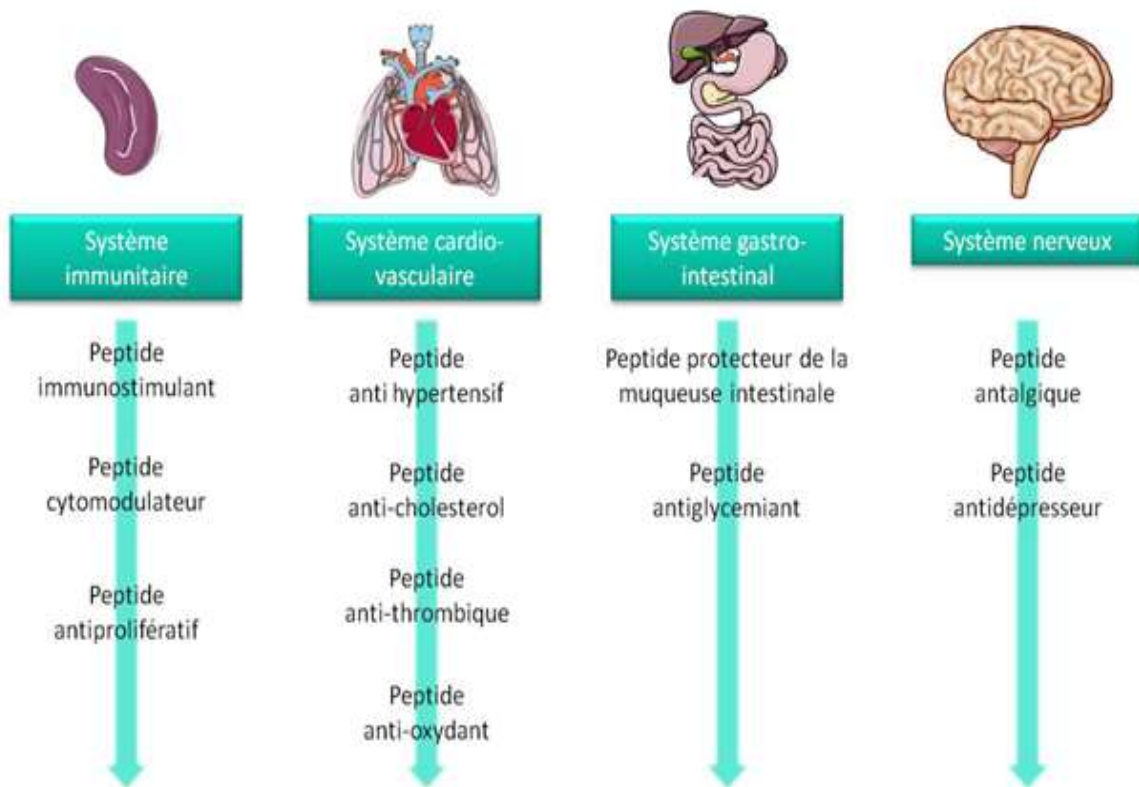


Figure 05 : Les classes de peptides bioactifs

I.6. Les antioxydants :

I.6.1 Généralités sur les antioxydants :

L'oxygène est la source de vie pour les organismes aérobies. Mais l'oxygène peut être également une source d'agression pour l'organisme (Ekoumou, 2003). En effet des dérivés hautement réactifs de l'oxygène peuvent apparaître au cours des réactions enzymatiques. Les formes de l'oxygène provoquant ces troubles sont: l'oxygène O , le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , les peroxydes alkyles $ROOH$, les radicaux hydroxyles HO , peroxydes ROO et alkoxydes RO (Cavina, 1999). Les conséquences au niveau de l'organisme se font ressentir sur l'ADN, les lipides et les protéines (Ahmet, 2003).

I.6.2. Mécanisme d'action des radicaux libres :

Les radicaux libres peuvent être considérés comme des déchets du métabolisme cellulaire. Ce sont des atomes et des molécules dotés d'une forte énergie et qui, avant d'être neutralisés détruisent ce qu'ils rencontrent. Ils sont produits dans toutes les cellules de l'organisme tout à fait normalement et en faible quantité dans les mitochondries. Il s'agit des ions oxygène,

hydroxyde et de l'eau oxygénée qui sont libérés lors des réactions biochimiques. Avant d'être neutralisés ils provoquent des lésions sur tous les éléments qu'ils côtoient (Boss, 2002).

L'organisme sait cependant se défendre contre eux, grâce aux enzymes antioxydantes contenues dans nos cellules. Ces enzymes sont aidées dans leur action antiradicalaire par la vitamine E, C, provitamine A, le zinc et le sélénium (Boss, 2002).

I.6.3.Principales sources d'antioxydants :

Certaines classes thérapeutiques telles que les AINS (anti-inflammatoire nonstéroïdien), les anti hyperlipoprotéinémiques, les β -bloquants et antihypertenseurs sont connus pour leurs propriétés antioxydantes (Ahmet, 2003). Le plus simple des capteurs des radicaux libre est l'alcool éthylique, agent de transfert d'hydrogène qui conduit à un composé biologiquement compatible, l'acétaldéhyde, bio oxydable par la chaîne enzymatique avec production d'énergie.

I.6.3.1 Les médicaments :

Certains médicaments (exemple du probucol (lurselle)) fait diminuer le taux du cholestérol dans le sang et, la N- acétylcystéine agit dans la régénération du glutathion en pénétrant les cellules, ces propriétés ont été reconnues lors d'études sur les phospholipides. En effet les thiols sont beaucoup plus actifs que les hydrocarbures, les alcools ou les phénols comme agents de capture radicalaire (LePerchec, 1994).

La capacité de protection du glutathions est jugée supérieure à celle d'un antioxydant aussi puissant que l' α -tocophérol. *In vitro*, le glutathion introduit une période d'induction à la prise d'oxygène par l'hémoglobine et retarde l'oxydation de la fraction hydrocarbonée insaturée des lécithines (esters insaturées d'acide gras de phospholipides) et de l'aniline (Mieyal, 1978).

I.6.3.2 Les vitamines

a) Acide ascorbique : Vitamine C

La Vitamine C contient une forme énediol qui produit la forme dicétonique par transferts successifs de ses deux atomes d'H. La forme énediol est régénérée par l'intervention d'enzyme superoxyde dismutase en présence d'une catalase. On trouve la vitamine C dans les légumes, les choux, le poivron, le persil, les agrumes et le kiwi. Elle joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E (Boss , 2002).

b) La vitamine E

Elle semble devoir fixer le radical hydroxyle avec formation d'une molécule d'ouverture de cycle. On la retrouve dans les huiles végétales (arachides, soja, chardon, tournesol, olive pressé à froid), les amandes, les graines, le lait, les oeufs, les légumes à feuilles vertes (Boss, 2002).

c) β -carotène

Parmi les photo-protecteurs actifs, le β -carotène apparaît comme un piègeur efficace. Sa constitution polyiénique lui confère une capacité de piégeage de l'oxygène par formation d'un dioxétane (addition d'une oléfine et d'une molécule d'oxygène) ou par production d'hydroperoxydes (insertion d'oxygène dans toutes liaisons C-H conjuguées d'une double liaison) susceptibles d'être réduits à leur tour. Il est présent dans les légumes verts, la salade, les carottes, l'abricot, le melon, les épinards, la papaye (Boss, 2002).

I.6.3.3 Les antioxydants naturels :

Ils sont présents dans toutes les parties des plantes supérieures. Ce sont des composés phénoliques (flavonoïdes, xanthones, coumarines, caroténoïdes, dérivés d'acide phénolique, tanins, anthocyanines,...).

Chapitre II :

Matériel et méthodes

II .Matériel et méthode**II.1 matériel biologique**

Dans notre étude, nous avons utilisé l'hydrolysate protéique de la crevette rouge *Aristeus antennatus* par voie enzymatique pour étudier leur activité antimicrobienne contre les bactéries pathogènes ainsi que son pouvoir antioxydant.

II.2 L'extraction de l'hydrolysate protéique

L'hydrolysate protéique a été préparé et traité par Tifour et Douara en 2018) avec les coproduits de la crevette rouge Les coproduits sont constitués principalement par la tête entière et les carapaces obtenus après décortication des crevettes, puis séchés à température ambiante et broyer à l'aide d'un broyeur pour obtenir une poudre.

Les hydrolysats sont l'aboutissement de la digestion partielle des protéines par hydrolyse protéolytique sous l'action d'enzymes exogènes.

L'enzyme utilisée au cours de l'étude est la Pepsine fournie par Sigma Aldrich (Steinheim, Allemagne). Il s'agit d'une endopeptidase extraite de la muqueuse gastrique porcine. Elle porte le numéro enzymatique (EC. 3.4.23.1).

Les coproduits de la crevette broyées sont diluées avec de l'eau distillée. Elles sont ensuite chauffées à 40°C dans un bain marie avec agitation continue, puis le pH est ajusté à 2 avec de l'acide chlorhydrique (HCL 2N). 0,5% de Pepsine est ensuite ajouté. L'hydrolyse dure 3 heures, pendant lesquelles le milieu réactionnel est constamment agité et le pH est ajusté à 2 avec de l'HCL 2N. L'inactiver de l'hydrolyse se réalise en ajoutant NaOH(5N) jusqu'à la neutralité du milieu réactionnel. (Figure.6).

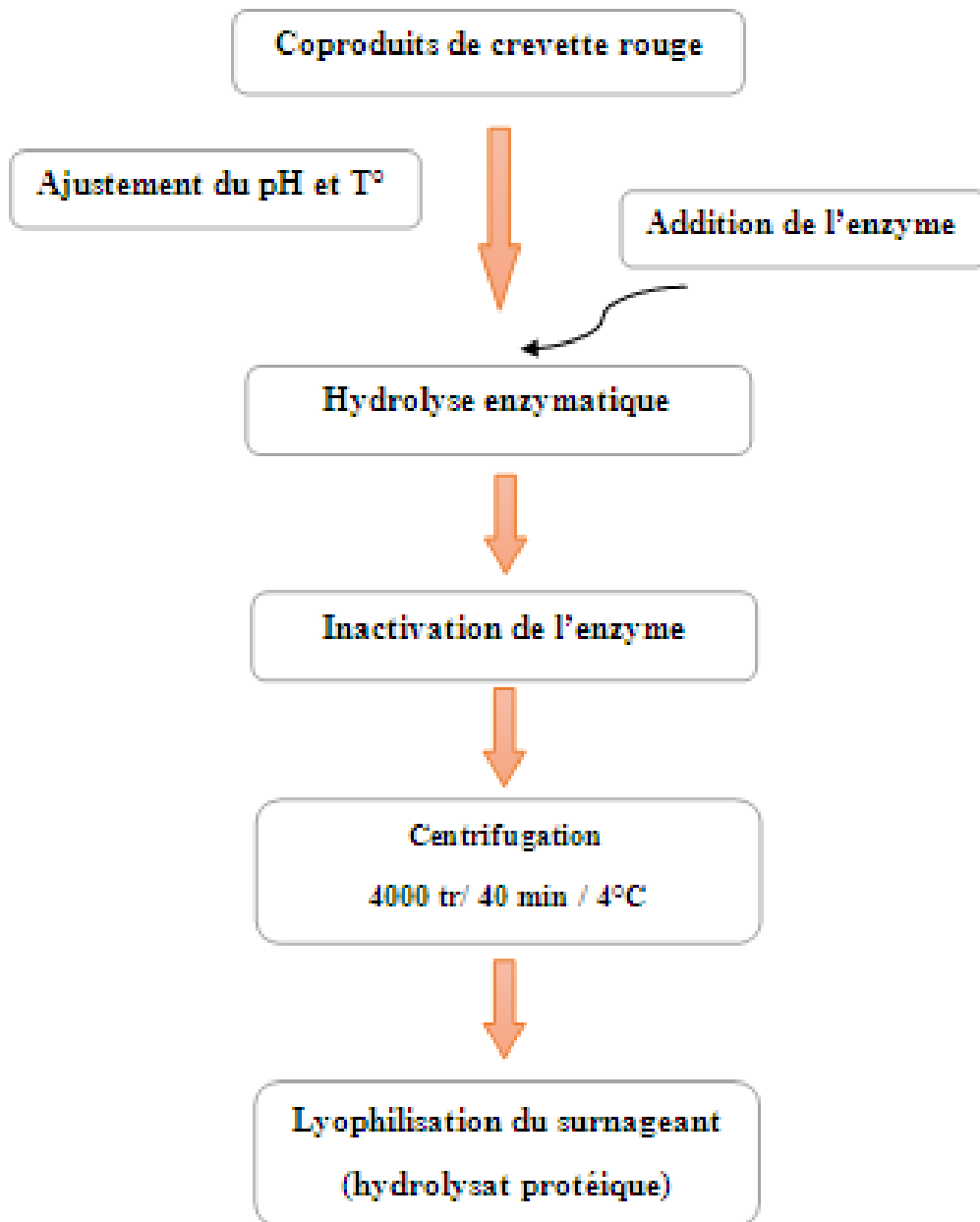


Figure 06 : Les étapes de l'hydrolyse enzymatique des coproduits de crevette.



Figure07 : Hydrolysats enzymatique de la Crevette rouge.

II.3. Pouvoir antimicrobien de l'hydrolysats protéique :

Cette étude à été réalisée par la méthode de diffusion en puits AWDT (Agar Well Diffusion Test)

II.3.1. Les souches pathogènes utilisées :

Six souches ont été testées : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas sp*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*.

Les germes pathogènes ont été réactivés en bouillon nutritif, et incubés à 37°C pour les bactéries et 30°C pour les souches fongiques et cela pendant 18h avant chaque utilisation.

II.4.2. Le renouvellement et l'enrichissement des souches pathogènes

Le renouvellement et l'enrichissement est effectuée par ensemencement des souches pathogènes dans un bouillon LB (Milieu Luria-Bertani) à 37°C (30°C) pendant 8 à 10 heures d'incubation avant chaque test d'antagonisme pour obtenir une culture jeune. (Figure .8).



Figure 08 : Le renouvellement des souches microbiennes utilisées.

II.4.3. Méthode de diffusion en puits AWDT :

Le test d'activité antimicrobienne des hydrolysats protéiques a été réalisé selon la méthode de Barefoot et Kaenhammer (1983) ; Berghe et Vlieinck (1991), appelée aussi méthode de diffusion en puits (AWDT). Les suspensions de culture des souches bactériennes et fongiques ont été bien étalées (1mL) sur une gélose solidifiée Luria-Bertani (LB) et une gélose à l'extrait de malt respectivement, et laissés reposer 10 min pour que la gélose absorbe la solution bactérienne. A l'aide d'un embout jaune stérile, quatre puits (de 6 mm de diamètre) sont creusés dans la couche d'Agar.

Ensuite, environ 100 μ L de la solution d'hydrolysat (de 1 g/10 ml de concentration) a été chargé dans chaque puits. Les boîtes de pétri ont été conservées pendant 60 min à 4°C, puis, incubés pendant 24h à 37 °C pour les souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas sp*, *BacellusCereus*) et à 30 °C pendant 48h pour les souches (*Candida albicans*, *Aspergillus niger*).

L'activité antimicrobienne a été évaluée en déterminant les diamètres (en mm) de la zone d'inhibition de croissance nette autour des puits. (Figure.9).

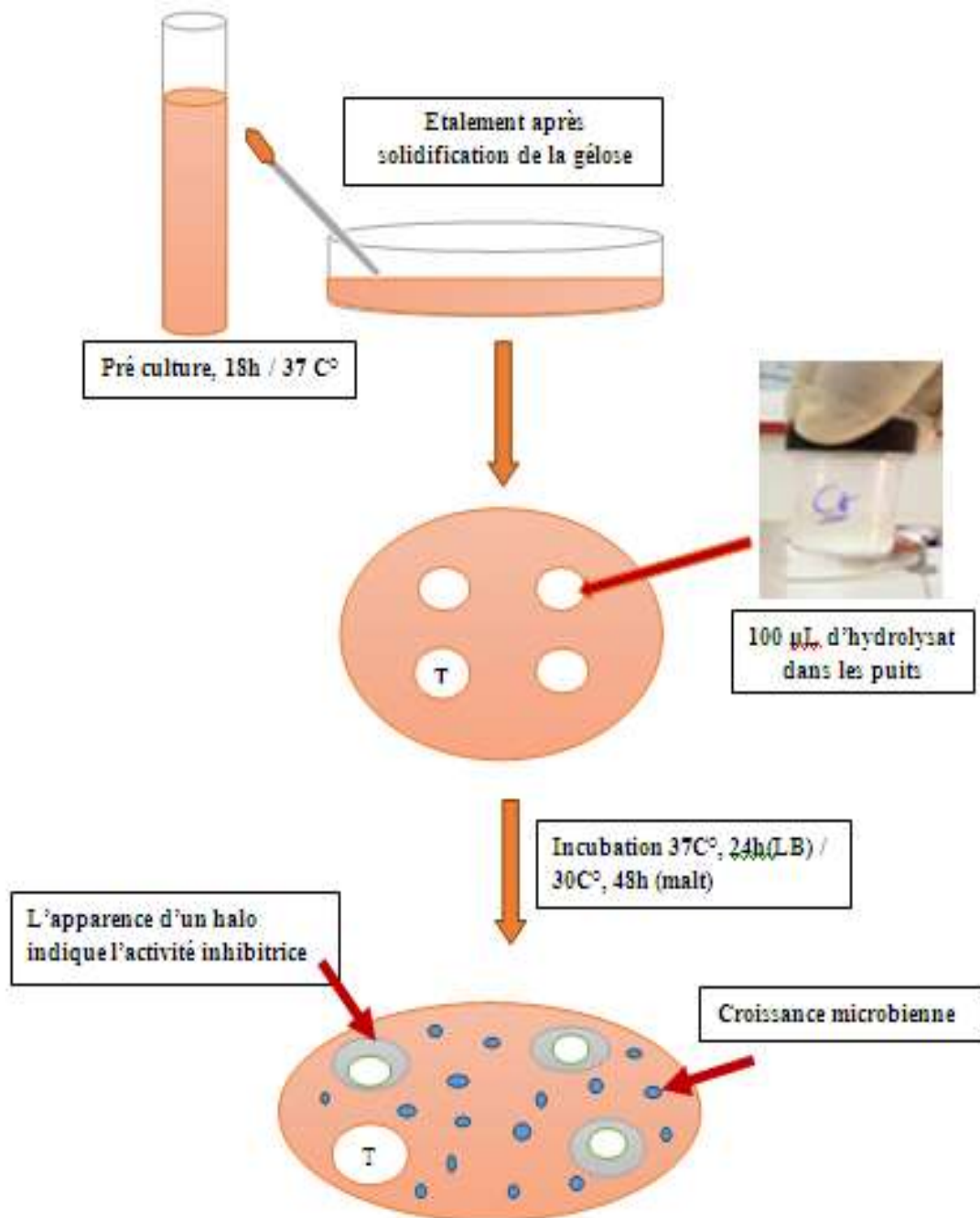


Figure 09 : Mise en évidence de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion en puits.

II.5. Activité antioxydante de l'hydrolysats protéique :

II.5.1.Capacité de piégeage du 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH) radicaux

La capacité d'hydrolysats protéique de la crevette rouge, à éliminer des radicaux libres DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle), a été déterminée selon la méthode de Bersuder *et al.*, (1998) avec une légère modification en présence des piègeurs des radicaux libres le DPPH de couleur violette se réduit en 2,2diphényl 1 picryl hydrazine de couleur jaune (figure 10).

On introduit dans chaque tube Eppendorf :

Un volume de 500 µL de chaque hydrolysats protéique à différentes concentrations (0,5 à 10 mg/mL) a été ajouté e à 375 µL d'éthanol absolu et 125 µL de DPPH éthanolique (0,06 M). Le mélange a été laissé reposer à température ambiante et dans l'obscurité pendant 1h. L'absorbance (A) a été mesurée à 517 nm par un spectrophotomètre (JENWAY/ BUYNOW/ 6715B0) contre un blanc de contrôle qui contient 500 µL d'éthanol à la place de 500 µL d'échantillon, puis il est incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon. L'acide ascorbique a été utilisé comme un témoin positif.

La capacité de piégeage des radicaux DPPH a été calculée comme suite :

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



Figure 10: Résultat du test de piégeage des radicaux libres le DPPH.

II.5.2. Activité antioxydant totale (TAC) :

La capacité antioxydant totale (TAC) des hydrolysats protéiques de la crevette rouge est évaluée par la méthode de phosphomolybdène (Prieto *et al.*, 1999; Dhinakaran et Gomathi, 2017; Hamdi et al, 2018).

Un volume de 0,1 mL de chaque solution d'hydrolysat protéique à différentes concentrations (0,5 à 10 mg/mL) a été mélangé avec 1 mL de solution du réactif (0,6 M d'acide sulfurique, 28 mM de phosphate de sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium). Ensuite, les tubes Eppendorfs ont été incubés à 95 °C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions a été mesurée à 695 nm avec le spectrophotomètre contre le blanc qui contient 1 mL de la solution du réactif et 0,1 mL d'eau distillée, puis il a été incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon. L'acide ascorbique a été utilisé comme témoin positif.

L'activité antioxydante totale a été évaluée en tant qu'équivalents de α -tocophérol par l'équation linéaire suivante :

$$A = 0,011 C + 0,0049 ; R^2 = 0,987$$

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

Chapitre III :

Résultats et discussion

III. Identifications des propriétés fonctionnelles de l'hydrolysate protéique :

III.1 Activité antimicrobienne :

Les résultats de l'évaluation de l'activité antimicrobienne d'hydrolysate protéique de crevette rouge préparé à une concentration de 1 mg/ml, testé en contact des souches bactériennes pathogènes de gram (-) et gram (+) (*Escherichia coli*, *Pseudomonas sp*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*) et pour cela un milieu nutritif LB a été utilisé et des souches fongiques (*Aspergillus niger*, *Candida albicans*) a été évalué sur un milieu semi-solide Malt, en mesurant la zone ou le diamètre d'inhibition de la croissance nette (clair) (exprimée en mm) autour les puits, sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Tableau02 : Le pouvoir antimicrobien d'hydrolysate enzymatique contre des souches pathogènes.

Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	
activité bactérienne	
<i>Escherichia coli</i> (-)	14 ± 0,5
<i>Pseudomonas sp</i> (-)	10,5 ± 0,01
<i>Bacillus cereus</i> (+)	09 ± 0,22
<i>Staphylococcus aureus</i> (+)	11 ± 1,6
Activité fongique	
<i>Aspergillus niger</i>	12,5 ± 0,02
<i>Candida albicans</i>	08 ± 0,34

D'après ces résultats, l'hydrolysate protéique obtenue par voie enzymatique possède une activité inhibitrice intéressante sur la souche *Escherichia coli* marqué par un diamètre d'inhibition de l'ordre de 14 mm, suivi par les souches *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas sp* marqué par un diamètre d'inhibition de 11 et 10,5 mm respectivement.

Tandis que la souche *Pseudomonas sp* a révélé une résistance la plus faible avec un diamètre de 09 mm.

Alors que pour l'activité antifongique, l'hydrolysate était clairement actif contre la souche testée *Aspergillus niger* avec un diamètre d'inhibition important de 12,5 par rapport à la souche *Candida albicans* qui a présenté un faible diamètre de 08mm seulement.



Figure 11: Aspect des zones d'inhibition de la croissance microbienne en présence de l'hydrolysate protéique par la méthode de diffusion en puits.

Les travaux de Djellouli (2018) sur l'hydrolysate de protéine obtenue de carapace de crevette blanche (*Penaeus vannamei*) en utilisant une bactérie lactique, ont révélés une activité antimicrobienne moindre contre *Escherichia coli* (6,96 mm), *Pseudomonas sp* (8,66mm) et *Staphylococcus aureus* (7mm).

Des travaux ont également été menés sur les produits à base de (*Mustelus mustelus*) (Abdelhedi *et al.*, 2016) et selon lesquels les analyses obtenues par hydrolyse de plusieurs enzymatiques (à 20 mg/ml) ont des activités antimicrobiennes presque similaires aux nôtres, en particulier contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. Tandis qu'aucune activité inhibitrice n'a été signalé contre *Bacillus cereus* pour toute les hydrolysats enzymatiques testées.

III.1 Pouvoir piégeage des radicaux libres (DPPH) de l'hydrolysate protéique :

Dans l'étude actuelle, la capacité de piégeage des radicaux DPPH d'hydrolysate protéique obtenue des coproduits de la crevette rouge par voie enzymatique, a été étudiée et réalisée à différentes concentrations (0,5 à 10 mg/ml). Comme indiqué sur la figure 13, l'hydrolysate protéique de la crevette rouge a montré une activité antioxydante marquante contre le DPPH.

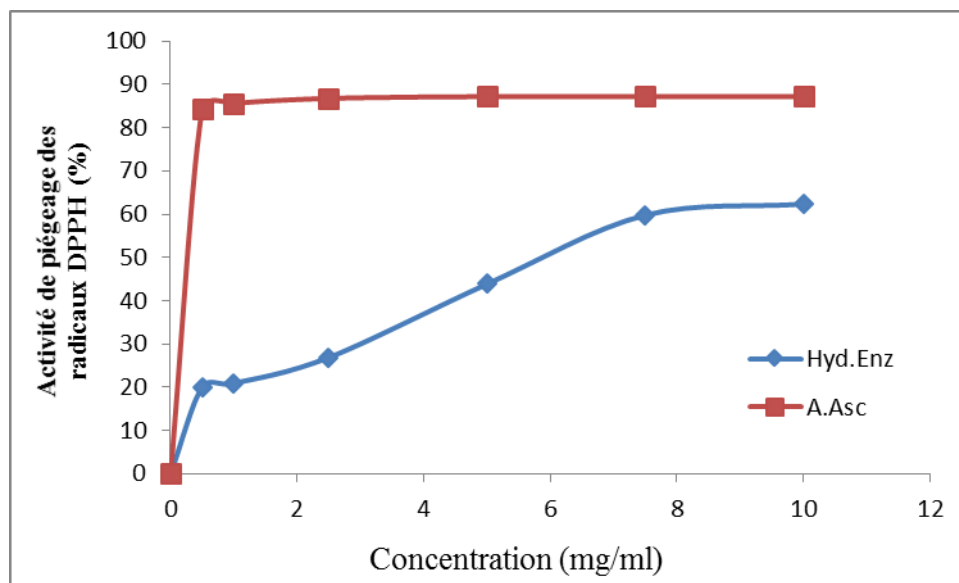


Figure 12 : Capacité d'élimination des radicaux DPPH par la solution d'hydrolysate protéique. (Hyd.ENZ) comparait à l'acide ascorbique(A.Asc).

D'après le graphe 13, nous remarquons que l'hydrolysate protéique a une activité importante (62,34%) à une concentration de 10 mg/ml. Les résultats obtenus sont non loin à ceux obtenus par l'antioxydant (Acide ascorbique) à la même concentration (87,18%).

Les résultats obtenus par Abdelhedi *et al.* (2016) sur l'hydrolysate enzymatique à partir de (*Mustelus mustelus*) on démontrés des valeurs très élevés (entres 80et 90 % à seulement 6mg/ml de concentration) par rapport à nos résultats (62,34%).

Les résultats obtenus indiquent que tous les hydrolysats contenaient certains peptides donneurs d'électrons et pouvaient réagir avec les radicaux libres pour les convertir en produits plus stables et mettre fin à la réaction en chaîne radicalaire (Abdelhedi *et al.*, 2016).

La capacité de piégeage des radicaux DPPH d'hydrolysat protéique obtenue par les travaux de Centenaro *et al.* (2011) à partir du poisson (*Umbrina canosai*) par différentes enzymes à atteint entre 20 et 24 % à une concentration de 5mg/ml. Ces résultats sont inférieurs à nos valeurs à la même concentration qui dépasse les 40%. Les différences dans la capacité de

piégeage des radicaux peuvent être attribuées à la différence de composition en acides aminés des peptides dans les hydrolysats de protéines radicalaire (Wu *et al.*, 2003).

III.2.La capacité antioxydante totale (TAC) :

La figure 14 présente la croissance de l'activité antioxydante totale de l'hydrolysat protéique de la crevette rouge ainsi que l'acide ascorbique en fonction de différentes concentrations.

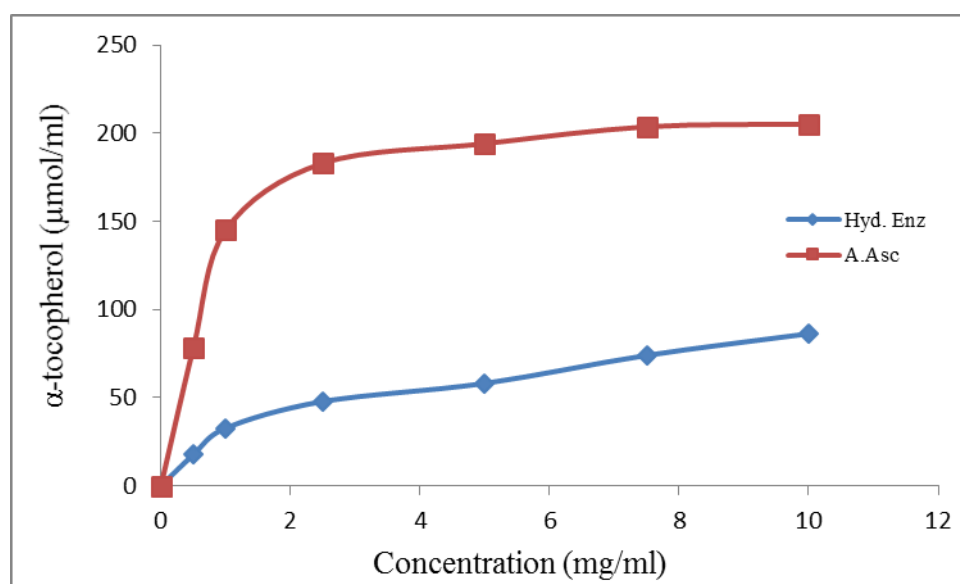


Figure14 : La croissance de l'activité antioxydante totale de l'hydrolysat enzymatique comparée au contrôle (Acide ascorbique) en fonction de différentes concentrations.

D'après la figure13 nous remarquons que : la croissance de l'activité antioxydante totale de l'hydrolysat protéique obtenue par voie enzymatique comparée au contrôle (Acide ascorbique) en fonction des différentes concentrations est beaucoup plus moins que celle obtenue par l'Acide ascorbique (86,18 et 205,19 μmol /ml équivalents α-tocophérol respectivement).

Conclusion

CONCLUSION

Objectif principale de ce travail est l'étude de l'activité antimicrobienne et antioxydante de l'hydrolysate protéique obtenue de la crevette rouge par voie enzymatique.

Pour la méthode des puits, les résultats ont montré que les bactéries de Gram négatif ont été les plus sensibles que celles à Gram positif. L'hydrolysate protéique a marqué un diamètre d'inhibition très important contre la souche *Escherichia coli*, Sauf que, la souche *Staphylococcus aureus*, la résistance a été faible à notre hydrolysate.

L'activité antifongique de l'hydrolysate a été évaluée contre (*Aspergillus niger* et *Condida albicans*), dont l'hydrolysate était hautement actif contre *Aspergillus niger* par rapport à la souche *Condida albicans*.

Pour déterminer l'activité antioxydante de l'hydrolysate protéique, nous avons établi un ensemble des tests en fonction des concentrations croissantes et en comparant avec l'Acide ascorbique. Les résultats obtenus a permis de conclure que l'hydrolysate enzymatique a des activités antioxydantes importantes mais reste un peu faible par rapport à l'activité de l'Acide ascorbique.

L'ensemble de ces résultats montre l'intérêt de l'hydrolysate protéique de la crevette rouge, dont elle présente un pouvoir antibactérien, antifongique et antioxydant assez attirant. A cet effet nous préconisons de caractériser et d'exploiter les autres propriétés de l'hydrolysate des coproduits de la crevette rouge tel que : le test de réduction du fer (FRAP : Ferric Reducing Antioxydant Power) ; Activité chélatante du fer (Fe^{2+}) ; le test d'antioxydant utilisant la méthode de blanchiment au β -carotène ; test de l'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique ; test de l'évaluation de l'activité inhibitrice de l'ECA ; test de coupure d'ADN.....

ANNEXES

Les milieux culture utilisée

Milieu LB :(milieu Luria-Bertani)

-extrait de levure	5g
-tryptone.....	10g
-Na cl.....	5g
-Agar	19g
-L'eau distillé.....	1l (1000ml)

Milieu de malt :

La composition comme suite :

- extrait de malt.....	18 g
-Agar.....	6g
-L'eau distillé.....	500ml

Références

bibliographiques

Références bibliographiques

A

Abdelhedi O., Jridi M., Jemil I., Mora L., Toldrá F., Boualga A., Nasri M., Nasri R., 2016. Concepción Aristoy, Combined biocatalytic conversion of smooth hound viscera: Protein hydrolysates elaboration and assessment of their antioxidant, anti-ACE and antibacterial activities. *Food Research International*, 8:9-23. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2016.05.013>.

Ahmet S; 2003. Etude phytochimique et des activités biologiques de *Balanites aegyptiaca* L. (Balanitaceae). Thèse de pharmacie, Bamako, 112 p.

Ahn C.B., Cho Y.S., & Je J.Y., 2015. Purification and anti-inflammatory action of tripeptide from salmon pectoral fin byproduct protein hydrolysate. *Food Chemistry*, 168 : 151-156.

B

Benjakul, S., Morrissey, M. T. (1997). Protein hydrolysates from pacific whiting solid wastes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(9), 3423-3430.

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

Berghe V. A., Vlieinck A. J., 1991. Screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. *Method for Plant Biochemistry*, 6: 47-68.

Bersuder, P., Hole, M., & Smith, G. (1998) : Antioxydants from a heated histidine -glucose model system. I : Investigation of the antioxidant role of histidine and isolation of antioxidants by high-performance liquid chromatography. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75, 181-187.

Bhaskar, N., Mahendrakar, N. (2008). Protein hydrolysate from visceral waste proteins of catla (*Catla catla*): Optimization of hydrolysis conditions for a commercial neutral protease. *Bioresource technology*, 99(10), 4105-4111.

Boss.I.P.L. (2002). Etudes des activités biologiques fagara xanthoxyloides LAM (Rutaceae).Thèse de Pharmacie, Bamako. 133.

Bulet, P., Stöcklin, R., Menin, L. (2004). Anti-microbial peptides: from invertebrates to vertebrates. *Immunological reviews*, 198(1), 169-184

C

Campillo, A., 1994- Bio-ecology of *Aristeus antennatus* in the fresh Mediterranean. *N.T.R.-I.T.P.P., Special publication* ,3 :88 p.

Cavina N (1999).Investigation Phytochimique De Trois Plantes Indonésienne Au Propriété Antioxydante et Antiradicalaire .les réactions enzymatiques 23(14) :25-49

Chalamaiah, M., Rao, G. N., Rao, D. G., Jyothirmayi, T. (2010). Protein hydrolysates from meriga (*Cirrhinus mrigala*) egg and evaluation of their functional properties. *Food chemistry*, 120(3), 652-657.

Choi, Y. J., Hur, S., Choi, B. D., Konno, K., Park, J. W. (2009). Enzymatic hydrolysis of recovered protein from frozen small croaker and functional properties of its hydrolysates. *Journal of Food Science*, 74(1), C17-C24.

Clemente, A. (2000). Enzymatic protein hydrolysates in human nutrition. *Trends in Food Science and Technology*, 11(7), 254-262.

D

Djellouli, M. 2018. Production et caractérisation de peptides bioactifs issus de l'hydrolyse des protéines alimentaires par les protéases des bactéries lactiques .cas de protéines de coproduits marins , Thèse de Doctorat en sciences option biotechnologie ,spécialité Ecosystèmes microbiens complexes.Université D'Oran 1 Ahmed Ben Bella ,Faculté des sciences de la nature et de la vie Département de biotechnologie 193p.

Dumay J., 2006. Extraction de lipides en voie aqueuse

par bioreacteur enzymatique combiné à l'ultrafiltration: Application à la valorisation de coproduits de poisson (*Sardina pilchardus*). *Thèse de doctorat de l'Université de Nantes*. 305 pp.

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

E

Ekoumou C.(2003).Etude phytochimique et pharmacologique de cinq recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et la cystite ;Ed.Bamako pp-145.

Erdös, E. G., Skidgel, R. A. (1987). The angiotensin I-converting enzyme. [Lab Invest.](#) Apr. 56(4):345-8.

G

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

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

Guérard, F., Decourcelle, N., Sabourin, C., Floch-Laizet, C., Le Grel, L., Le Floc'h, P., Gourlay, F., Le Delezir, R., Jaouen, P., Bourseau, P. (2010). Recent developments of marine ingredients for food and nutraceutical applications: a review. *Journal des sciences Halieutique et Aquatique*, 2, 1-27.

Gupta, R., Beg, Q., Lorenz, P. (2002). Bacterial alkaline proteases: molecular approaches and industrial applications. *Applied microbiology and biotechnology*, 59(1), 15-32.

H

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

Hancock, R. E., Sahl, H. G. (2006). Antimicrobial and host-defense peptides as new anti-infective therapeutic strategies. *Nature biotechnology*, 24(12), 1551-1557.

Heu M.S., Kim J.S., Shahidi F., 2003. Compoments and nutritional quality of shrimp processing by-products. *Food Chemistry*,

I

Ibrahim, H. M., Salama, M. F., El-Banna, H. A. (1999). Shrimp's waste : Chemical composition, nutritional value and utilization. *Nahrung*, 43, 418-423.

K

KHERRAZ ,A .2006 :Premières Données sur la crevette Rouge, *Aristeus antennatus* (Risso,1816) de la région Oranaise. Biologie-Ecologie. P : 58-69.

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

Kim, S. K., Mendis, E. (2006). Bioactive compounds from marine processing byproducts-a review. *Food Research International*, 39(4), 383-393.

Ko, S. C. et Jeon, Y. J. (2013). Marine peptides for preventing metabolic syndrome. *Current Protein and Peptide Science*, 14(3), 183-188.

Korhonen, H., Pihlanto, A. (2006). Bioactive peptides: production and functionality. *International Dairy Journal*, 16(9), 945-960.

Kotzamanis Y.P., Gisbert E., Gatesoupe F.J., Infante J.Z., Cahu C., 2007. Effects of different dietary levels of fish protein hydrolysates on growth, digestive enzymes, gut microbiota, and resistance to *Vibrio anguillarum* in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Comp. Biochem. Phys. A: Mol. Integr. Physiol.*, 147(1): 205-214.

Ktari N., Mnafigui K., Nasri R., Hamden K., Bkhairia I., Hadj A.B., ... Nasri M., 2013. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of protein hydrolysates from zebra blenny (*Salaria basilisca*) in alloxan-induced diabetic rats. *Food & Function*, 4: 1691-1699.

L

Lassoued I., Mora L., Nasri R., Aydi M., Toldrá F., Aristoy M. C., Nasri, M., 2015. Characterization, antioxidative and ACE inhibitory properties of hydrolysates obtained from thornback ray (*Raja clavata*) muscle. *Journal of Proteomics*, 128:458-68.

Le Perchec (1994) ; Les molécules de la beauté, de l'hygiène et de la protection. Ed Nathan, Paris.142.

Lian P.Z., Lee C.M., Park E., 2005. Characterization of squid-processing by-product hydrolysates and its potential as aquaculture feed ingredient. *J. Agric. Food Chem.*, 53: 5587-5592.

Liaset, B., Lied, E., Espe, M. (2000). Enzymatic hydrolysis of by-products from the fish-filleting industry; chemical characterisation and nutritional evaluation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(5), 581-589.

Liu, Z., Dong, S., Xu, J., Zeng, M., Song, H., Zhao, Y. (2008). Production of cysteine-rich antimicrobial peptide by digestion of oyster (*Crassostrea gigas*) with alcalase and bromelin. *Food Control*, 19(3), 231-235.

M

Marchbank, T., Elia, G., Playford, R. J. (2009). Intestinal protective effect of a commercial fish protein hydrolysate preparation. *Regulatory Peptides*, 155, 105- 109.

Mendis, E., Rajapakse, N., Byun, H.G., Kim, S.K. (2005a). Investigation of jumbo squid (*Dosidicus gigas*) skin gelatin peptides for their *in vitro* antioxidant effects. *Life Science*, 77, 2166-2178.

Mieyal JJ.(1978). Mecanism of enzyme like reaction involving human hemoglobin. Biorganic chemistry. Vol IV, Van Tamelen. Acad. Press, New York. 315-348.

Mullally, M. M., O'Callaghan, D. M., Fitzgerald, R. J., Donnelly, W. J., Dalton, J. P. (1995). Zymogen activation in pancreatic endoproteolytic preparations and influence on some

whey protein hydrolysate characteristics. *Journal of food science*, 60(2), 227-233.

N

Nasri, R., Amor, I. B., Bougatef, A., Nedjar-Arroume, N., Dhulster, P., Gargouri, J., Châabouni, M. K., Nasri, M. (2012). Anticoagulant activities of goby muscle protein hydrolysates. *Food Chemistry*, 133(3), 835-841.

Nasri R., Jridi M., Lassoued I., Jemil I., Ben Slama-Ben Salem R., Nasri M., Karra-Châabouni M., 2014. The influence of the extent of enzymatic hydrolysis on antioxidative properties and ACE-inhibitory activities of protein hydrolysates from goby (*Zosterisessor ophiocephalus*) muscle. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 173: 1121-1134

Nesse, K. O., Nagalakshmi, A. P., Marimuthu, P., Singh, M., Bhetariya, P. J., Ho, M., Simon, R. R. (2014). Safety evaluation of fish protein hydrolysate supplementation in malnourished children. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 69(1), 1-6.

Ngo D.N., Lee S.H., Kim M.M., Kim S.K., 2009. Production of chitin oligosaccharides with different molecular weights and their antioxidant effect in RAW 264.7 cells. *Journal of Functional Foods*, 1: 188-198.

Nilsang, S., Lertsiri, S., Suphantharika, M., Assavanig, A. (2005). Optimization of enzymatic hydrolysis of fish soluble concentrate by commercial proteases. *Journal of food Engineering*, 70(4), 571-578.

P

Prieto P., Pineda M., Aguilar M., 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269: 337-341.

R

Raa, J., Gildberg, A., Olley, J. N. (1982). Fish silage : A review. *C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 16(4), 383-419.

Ragonese & Bianchini, M.L, S. (eds), 1994. Life cycles and fisheries of the deep-water shrimps *Aristaeomorpha foliacea* and *Aristeus antennatus*. In: Proceedings of the International Workshop held in the Istituto di Tecnologia della Pesca e del Pescato (ITPP-CNß), Mazara del Vallo, Italy, 28-30 April 1994, *NTR-ITPP Special Publications* 3, 88 p.

Reddy, K. V. R., Yedery, R. D., Aranha, C. (2004). Antimicrobial peptides : premises and promises. *International journal of antimicrobial agents*, 24(6), 536- 547.

Refstie S., Olli J.J., Standal H., 2004. Feed intake, growth, and protein utilisation by post-smolt atlantic salmon (*Salmo salar*) in response to graded levels of fish protein hydrolysate in the diet. *Aquaculture*, 239(1-4): 331-349.

S

Sachindra N.M., Bhaskar N., 2008. In vitro antioxidant activity of liquor from fermented shrimp biowaste. *Bioresource Technology*, 99: 9013-9016.

T

Tang, H.-g., Wu, T.-x., Zhao, Z.-y. et Pan, X.-d. (2008). Effects of fish protein hydrolysate on growth performance and humoral immune response in large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea* R.). *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*, 9(9):684{690.

Tifour.H et Douara.O,(2018) *Valorisation des coproduits de la crevette rouge (A.antennatus) (Risso, 1816) : Utilisation du hydrolysate enzymatique.* Mémoire de Master en hydrobiologie marine et continentale. Spécialité: Ressources Halieutiques 38p.

V

Vieira, G. H. F., Vieira, R. H. S. F., Macrae, A., Sousa, O. V. (2005). Peptone preparation from fishing by-products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 1235-1237.

W

Wang, Z., Wang, G. (2004). APD : the antimicrobial peptide database. *Nucleic Acids Research*, 32, 590-592

Wu H.C., Chen H.M., Shiau C.Y., 2003. Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*). *Food Research International*, 36: 949-957.

Z

Zariquiey-Álvarez, R. 1968 -.Crustáceos Decápodos ibéricos. Investigación Pesquera (Barcelona), 32. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Institut de Ciènces del Mar: Barcelona. 510 pp.