

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de L'enseignement Supérieur et de La recherche scientifique

Université Abderrahmane MIRA de Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique
Laboratoire de Zoologie Appliquée et d'Ecophysiologie Animale



Mémoire de Master

Filière : Science Biologique

Option : Biochimie Appliquée

Thème

Etude préliminaire de la composition biochimique (lipidique et minérale) et des activités biologiques (anti radicalaires et antimicrobiennes) des extraits de poudre de cinq espèces de poissons marins du golf de Bejaia.

Soutenu le : 12 Juin 2016 à 9h00

Présenté par :

M^{elle} HAMGA Lydia

M^{elle} KERKOUR Djedjiga

Composition du jury :

M^r M. HAMOUM

M^{me} H. DJOUDAD-KADJI

M^{me} S. KHELFALAH

M^{me} Y. BERRI

M^r A. LAHWAL

MAA (UAMB)

MCB (UAMB)

INGENIEUR (Prevolab/Elkseur Bejaia)

MAA (UAMB)

MEDECIN LEGISTE (INCC/GN Alger)

Président

Promotrice

Co-promotrice

Examinatrice

Invité

Année universitaire : 2015/2016

*“La théorie, c’est quand on sait tout mais que rien ne fonctionne.
La pratique c’est quand tout fonctionne mais que personne ne sait pourquoi.
En science on allie la théorie à la pratique : rien ne fonctionne et personne ne sait pourquoi.”*

ALBERT EINSTEIN

AVANT-PROPOS

Notre étude a été menée grâce à la contribution de six laboratoires cités ci-après :



Laboratoire de Zoologie Appliquée et d'Ecophysologie Animale (LZA), Université de Bejaia, sous l'orientation de M^{me} DJOUDAD-KADJI H (*Fabrication de la poudre de poisson*).

Laboratoire de Biologie Physico-chimique (BPC), Université de Bejaia, sous l'orientation de M^{elle} TABTI N. (*Lyophilisation et extraction de la matière grasse par la méthode de Folch*),



Laboratoire de Science Alimentaire (SA), Université de Bejaia, sous l'orientation de M^r ZAIDI F. (*Extraction de la matière grasse par la méthode de Soxhlet*).



Laboratoire de Control de Qualité, Prévolab Elkseur, Bejaia, sous l'orientation de M^{me} KHALFELAH S. (*Dosage des polyphénols, flavonoïdes, protéines, ainsi que les activités biologiques antioxydant, anti radicalaire et antibactérienne*).



Laboratoire de Biologie Générale, Université Catholique de Lyon, France, sous l'orientation de M^{me} CHEVALIER C. (*La caractérisation des huiles de poisson par CPG-FID*).



Laboratoire des drogues au sein de l'Institut National de Criminalistique et de Criminologie, Bouchaoui Alger, sous l'orientation du Comandant BOUMRAH Y (*La caractérisation des minéraux par XRF et les deux acides gras EPA et DHA par FTIR*).

On exprime notre profonde reconnaissance aux responsables de ces laboratoires pour l'aide et les moyens humains et matériels qui nous ont apporté, ce qui nous a permis de
c *réaliser ce travail dans les meilleures conditions.*

REMERCIEMENT

Bien que la réalisation d'un mémoire ait toute l'apparence d'un long parcours universitaire solitaire, diverses personnes ont contribué à différents degrés à mener à bien ce projet parfois périlleux, avec ses hauts et ses bas.

On tient tout d'abord à remercier très sincèrement notre promotrice **M^{me} DJOUDAD-KADJI H.**, Docteur au Département de Biologie Physico-chimique, Université de Bejaia, de nous avoir fait l'honneur de diriger ce travail. Nous sommes très reconnaissantes pour la confiance et le soutien permanent, qu'elle nous a témoigné au cours de ce travail ainsi que pour la grande autonomie qu'elle nous a accordée.

On remercie également le commandant **BOUMRAH Y.**, Chef de Département de Toxicologie au sein de l'Institut National de Criminalistique et Criminologie, pour son accueil chaleureux au sein de son laboratoire, et pour nous avoir soutenus dans la réalisation de ce travail et qui a toujours fait preuve d'une grande disponibilité et d'une gentillesse à tout moment. On l'assure de notre profonde gratitude et de notre sincère reconnaissance.

On exprime notre vive reconnaissance à **M^{me} KHELFALAH S.**, Responsable du Laboratoire du Control de Qualité Prévotab à Elkseur (Bejaia), qui nous a beaucoup aidé à réaliser ce travail, on la remercie pour ses qualités humaines et de nous faire l'honneur d'être la Co-promotrice de ce mémoire.

Nos remerciements vont également :

À **M^r OUCHMOUKH S.** et **M^{me} ABEDERAHIM S.**, Enseignants au sein du Département de Biologie Physico-chimique à Bejaia, pour tous les conseils et les précieuses orientations.

À **M^r ZAIDI** Professeur au sein du Département de Science Alimentaire à l'Université de Bejaia, pour l'aide qui nous a apporté durant les manipulations dans son laboratoire.

À **M^r HAMOUM M.** et **M^{me} BERRI Y.** pour nous avoir fait l'honneur d'examiner et de juger ce travail.

De même, on remercie très sincèrement **M^r LADJOUZI R.** Docteur au Département de Tronc Commun, Université de Bejaia, pour son aide et sa générosité en nous communiquant les souches bactériennes.

Nos remerciements vont vers **M^{elle} TABTI N.**, Ingénieur de Laboratoire BPC , et **M^r KADJILB** pour tous leurs conseils, leurs encouragements et leurs enthousiasme. C'était un véritable plaisir de travailler ensembles.

On remercie aussi **M^{me} BENMASSOUDAN F.** et **M^r BOUCHENWA F.** pour leur sympathie et leur aide lors de notre séjour au laboratoire BPC, ainsi que les conseils et les différentes discussions constructives.

On tient à remercier, enfin, les personnes des différents laboratoires, qui nous ont aidés au cours des expérimentations.

Ce travail n'aurait pas été possible sans le soutien quotidien de notre famille qui a toujours été là pour nous.

Je dédie ce travail :

- *A la lumière de mes yeux et le bonheur de ma vie ; ma mère qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'études, pour son sacrifice et soutien qui m'a donné l'amour, la confiance, le courage et la sécurité.*
- *A mon cher père (**mon paponi**) qui m'a appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour son sacrifice et ses encouragements.*
- *A celui qui me conseil vers le bien qui m'a rien refusé pour que je réussisse, mon cher oncle (**Dada Saïd**) que dieu te protège.*
- *A mes chères solidaires sœurs : **Chabha (Atcha)** ; **Thiziri (Zila)** ; **Thanina (Nila)** ; **Thamila (Mila)** ; **Imene (Ila)**, qui m'ont apporté un soutien sans faille, je suis redevable pour leurs patiences et leurs multiples encouragements, que de la réussite qui vous accompagne tout au long de votre chemin ; sœurs un future radieux vous attend*
- *A mes chères grandes mères.*
- *A toute ma famille, que je tiens à exprimer toute ma reconnaissance pour leurs immense soutien lors de mes années d'études et qui vécurent de près ou de loin le déroulement de mon parcours*
- *A celui qui m'a accompagné durant ces années, qui a partagé mes enthousiasmes autant que mes moments difficiles et qui ne cesse de me soutenir et de me guider avec leurs harmonies de conseils merci **Lamine**, battez-vous, l'avenir est à vous.*
- *A ma chère copine **cicil**, tu es une sœur pour moi, je te souhaite beaucoup de réussite.*
- *A toutes et tous mes amis proches : **Hycham, Leounas, Sony, Lydy, Ramzi, Taher, okba, Mehani, Yasser, Rida, Laïfa, Khouka, Naima, Mourad, Melo, Mido.***
- *A toute la promotion de Biochimie Appliquée 2015/2016, bon courage.*
- *A tous les résidents de l'**TTE aamriw**, et ses travailleurs.*

Djedjiga

Je dédie ce travail

- *À mes très chers parents qui m'ont donné la tendresse et le courage pour que je réussisse ;*
- *À la mémoire de ma grande mère.*
- *À ma petite sœur Djida ;*
- *À mon frère unique Fateh ;*
- *À tous mes amis (es).*

Lydia.

SOMMAIRE

Avants propos

Remerciements

Dédicace

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

INTRODUCTION..... 01

I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1. APERÇU SUR LES APPORTS NUTRITIONNELS ET LES COMPOSANTS BIOCHIMIQUES CHEZ LE POISSON.....	03
1.1. Apports nutritionnels du muscle.....	03
1.1.1. Apports en protéines.....	03
1.1.2. Apports en glucides.....	03
1.1.3. Apports en minéraux.....	03
1.1.4. Apports en vitamines.....	03
1.1.5. Apports en lipides	03
1.2. Apports nutritionnels des coproduits.....	04
1.3. Apports en lipides	04
1.4. Les acides gras omégas 3	04
1.5. Les phospholipides.....	05
1.6. Les polyphénols.....	06
1.7. Les flavonoïdes.....	06
2. LE STRESS OXYDANT ET LES ANTIOXYDANTS	07
2.1. Le stress oxydant.....	07
2.2. Les antioxydants.....	08
2.3. Les antioxydants de type I.....	08
2.4. Les antioxydants de type II	09
2.5. Les antioxydants de type III.....	09
3. LES ACTIVITES ANTIOXYDANTES ET ANTIRADICALAIRES.....	09
4. ACTIVITES BIOLOGIQUES DES HYDROLYSATS DU POISSON.....	10
5. LES ACTIVITES BIOLOGIQUES DES ACIDES GRAS DU POISSON.....	11

II. MATERIEL ET METHODES

1. LE MATERIEL BIOLOGIQUE/ POUDRE / EXTRACTION.....	13
1.1. Présentation des poissons.....	13
1.2. Préparation de la poudre de poisson.....	14
1.3. Extraction des acides gras par solvants organiques.....	15
1.3.1. Extraction par la méthode de Soxhlet.....	15
1.3.2. Extraction par la méthode de Folch.....	16

SOMMAIRE

2. CARACTERISATION DES ACIDES GRAS ET DES MINERAUX	19
2.1. Analyse chromatographique en phase gazeuse (CPG).....	19
2.2. Analyse par spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR).....	21
2.3. Analyse par la micro fluorescence au rayon x (μ XRF).....	22
3. DOSAGE DES POLYPHENOLS, FLAVONOIDES ET PROTEINES	24
3.1. Préparation des extraits.....	24
3.2. Dosage des polyphénols.....	24
3.3. Dosage des Flavonoïdes.....	25
3.4. Dosage des Protéines.....	26
3.4.1. Méthode de Bradford.....	26
3.4.2. Méthode de Lowry.....	26
4. ACTIVITES ANTIOXYDANTS ET ANTIBACTERIENNE	27
4.1. Test du blanchissement du β carotène.....	27
4.2. Effet scavenger du radical DPPH.....	27
4.3. Test antimicrobien.....	28
5. ANALYSE DE DONNEES	29

III. RESULTATS ET DISCUSSION

1. EVALUATION DU RENDEMENT D'EXTRACTION EN FONCTION DES METHODES ET DES POISSONS	30
2. CARACTERISATION DES ACIDES GRAS ET DES MINERAUX	31
2.1. Analyse par Chromatographie en Phase gazeuse (CPG).....	31
2.2. Analyse Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR).....	32
2.3. Analyse par la micro fluorescence au rayon X (μ XRF).....	36
3. DOSAGES DES POLYPHENOLS, FLAVONOIDES ET PROTEINES38	
3.1. Dosage des polyphénols.....	38
3.2. Dosage des flavonoïdes.....	40
3.3. Dosage des protéines.....	42
3.3.1. La méthode de Lowry.....	42
3.3.2. La méthode de Bradford.....	44
3.3.3. Comparaison des deux méthodes : Lowry et Bradford.....	45
4. LES ACTIVITES ANTIOXYDANTS ET ANTIBACTERIENNES	46
4.1. Test de blanchissement de la β -carotène.....	46
4.2. Effet scavenger du radical DPPH.....	48
4.3. Activité antimicrobiennes.....	50
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	52
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	54

ANNEXES

Liste des abréviations

AAR :	Activité antioxydant relative
AE :	Agrégat Euclidien
AGPI-LC :	Acide gras polyinsaturé à longue chaîne
ANOVA :	Analyse de la variance
BHT :	Butyl-hydroxy-toluène
BSA :	Sérum albumine bovine
CAH :	Classification ascendante hiérarchique
CGL :	Chromatographie gaz-liquide
CGS :	Chromatographie gaz-solide
CPG :	Chromatographie à phase gazeuse
DHA :	Acide docosahexaénoïque
DPPH :	Piphényl picryl hydrazyl
EAG :	Équivalent d'acide gallique
ERO :	Espèce réactive d'oxygène
EPA :	Acide eicosapentaénoïque
EQ :	Équivalent de quercétine
FID :	Ionisation de flamme
Folch PI :	Folch phase inférieure
Folch PS :	Folch phase supérieure
FTIR :	Infrarouge à transformée de Fourier
GC :	Chromatographie gazeuse
HPLC :	Chromatographie liquide à haute performance
KBr:	Bromure de potassium.
KPC :	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
MS :	Spectrométrie de masse
OH• :	Radical hydroxyl
O₂• :	Superoxyde
RMN :	Résonance magnétique nucléaire
SARM :	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la Mécilline
SIDA :	Syndrome d'immunodéficience acquise
μXRF :	Micro fluorescence au rayon X

Liste des figures

Figure 1 :	La structure chimique de l'EPA et la DHA.....	05
Figure 2 :	Structure des flavonoïdes.....	06
Figure 3 :	Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie.....	07
Figure 4 :	Etapes de la préparation de la poudre de poisson.....	14
Figure 5 :	Etapes d'extraction des acides gras par Soxhlet.....	16
Figure 6 :	Schéma récapitulatif d'extraction de la matière grasse par la méthode de Folch.....	18
Figure 7 :	A/ Schéma général d'une Chromatographie en Phase Gazeuse couplé à un Détecteur à Ionisation de Flamme..... B/Chromatographe en phase gazeuse, ionisation de flamme, CPG-FID.....	20
Figure 8 :	A/Schéma de l'absorption d'une radiation infrarouge par une molécule..... B/ Photo de l'appareil NICOLET 6700 FTIR équipé d'un microscope (NICOLET CONTINU μ M).....	21
Figure 9 :	Photo de l'appareil micro Fluorescence des Rayons X HORIBA XGT 5000.....	23
Figure 10 :	Protocole modifié pour la préparation des extraits par macération...	24
Figure 11 :	Protocole de dosage des polyphénols.....	25
Figure 12 :	Protocole de dosage des flavonoïdes.....	25
Figure 13 :	Protocole de dosage des protéines par les deux méthodes Bradford et Lowry.....	26
Figure 14 :	Protocole de mesure de l'activité anti-radicalaire par le DPPH.....	28
Figure 15 :	Histogramme illustrant la variation du taux de rendement en matière grasse en fonction des deux méthodes d'extraction et des cinq muscles de poissons.....	30
Figure 16 :	Dendrogramme réalisé par une CAH illustrant la relation entre les cinq espèces de poissons en se basant sur le taux de rendement en matière grasse.....	30
Figure 17 :	Profils chromatographiques d'esters méthyliques d'acides gras. A/ Acides gras témoins..... B/ Huile de poisson de <i>P. erythrinus</i> C/ Huile de poisson de <i>S. aurita</i>	31 31 31
Figure 18 :	Spectre de l'analyse par FTIR d'huile de <i>S. aurita</i> dans la région 4000-500 cm^{-1}	32
Figure 19 :	Spectre de l'analyse par FTIR de l'huile de <i>P. erythrinus</i> dans la région 4000-500 cm^{-1}	33
Figure 20 :	Spectre de l'analyse par FTIR d'huile de <i>S. pilchardus</i> dans la région 4000-500 cm^{-1}	33
Figure 21 :	Spectre de l'analyse par FTIR d'huile d' <i>E. encrasicolus</i> dans la région 4000-500 cm^{-1}	33
Figure 22 :	Spectre de l'analyse par FTIR d'acide gras DHA pur dans la région 4000-500 cm^{-1}	34
Figure 23 :	Spectre de l'analyse par FTIR d'acide gras DHA pur dans la région 4000-500 cm^{-1}	34
Figure 24 :	Spectre de l'analyse par FTIR d'acide gras EPA pur dans la région	

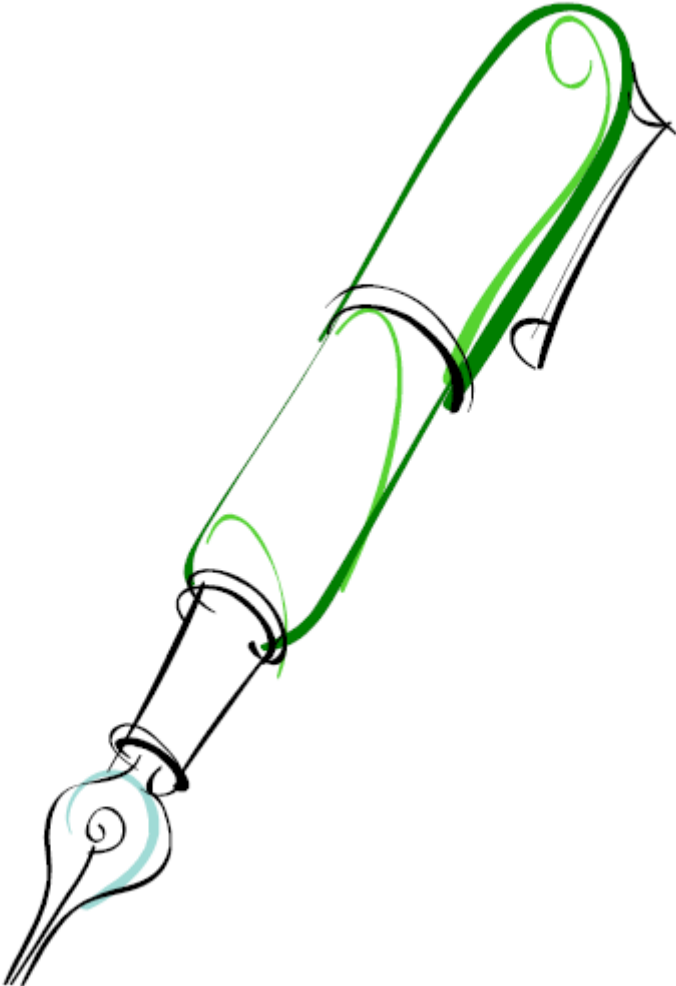
Liste des figures

	4000-500cm ⁻¹	34
Figure 25 :	Spectre de micro florescence au rayon X caractéristique de la poudre de <i>S. aurita</i>	36
Figure 26 :	Spectre de micro florescence au rayon X caractéristique de la poudre de <i>S. pilchardus</i>	36
Figure 27 :	Spectre de micro florescence au rayon X caractéristique de la poudre d' <i>E. encrasicolus</i>	37
Figure 28 :	Spectre de micro florescence au rayon X caractéristique de la poudre de <i>T. trachurus</i>	37
Figure 29 :	Histogramme illustrant les teneurs en polyphénols en fonction des types d'extraits et des cinq espèces de poissons.....	38
Figure 30 :	Dendrogramme établie par une CAH illustrant la relation entre les types d'extraits en se basant sur les teneurs en polyphénols.....	38
Figure 31 :	Histogramme illustrant les teneurs en polyphénols en fonction des cinq espèces de poissons et des types d'extraits.....	39
Figure 32 :	Dendrogramme réalisé par une CAH illustrant la relation entre les cinq espèces de poissons en se basant sur leurs teneurs en polyphénols.....	39
Figure 33 :	Histogramme illustrant les teneurs en flavonoïdes en fonction des types d'extraits et des cinq espèces de poissons.....	40
Figure 34 :	Dendrogramme réalisé par une CAH illustrant la relation entre les types d'extraits en se basant sur les teneurs en flavonoïdes.....	40
Figure 35 :	Histogramme illustrant les teneurs en flavonoïdes en fonction des cinq espèces de poissons et des types d'extraits.....	41
Figure 36 :	Dendrogramme réalisé par une CAH illustrant la relation entre les cinq espèces de poissons en se basant sur leurs teneurs en flavonoïdes.....	41
Figure 37 :	Histogramme illustrant les teneurs en protéines dosées selon Lowry en fonction des types d'extraits et des cinq espèces de poissons.....	43
Figure 38 :	Histogramme illustrant les teneurs en protéines dosées selon Lowry en fonction des cinq espèces de poissons et des types d'extraits.....	43
Figure 39 :	Dendrogramme réalisé par une CAH illustrant la relation entre les types d'extraits en se basant sur leurs teneurs en protéines dosées selon Lowry.....	43
Figure 40 :	Dendrogramme réalisé par une CAH illustrant la relation entre les cinq espèces de poissons en se basant sur leurs teneurs en protéines dosées selon Lowry.....	43
Figure 41 :	Histogramme illustrant les teneurs en protéines dosées selon Bradford en fonction des types d'extraits et des cinq espèces de poissons.....	44
Figure 42 :	Histogramme illustrant les teneurs en protéines dosées selon Bradford en fonction des cinq espèces de poissons et des types d'extraits.....	44
Figure 43 :	Dendrogramme réalisé par une CAH illustrant la relation entre les types d'extraits en se basant sur leurs teneurs en protéines dosées selon Bradford.....	44

Liste des figures

Figure 44 :	Dendrogramme réalisé par une CAH illustrant la relation entre les cinq espèces de poissons en se basant sur leurs teneurs en protéines dosées selon Bradford.....	44
Figure 45 :	Cercle de corrélation illustrant la distribution des cinq espèces de poissons en fonction des deux méthodes de dosages des protéines : Lowry et Bradford.....	45
Figure 46 :	Cercle de corrélation illustrant la distribution des différents types d'extraits en fonction des deux méthodes de dosages des protéines : Lowry et Bradford.....	45
Figure 47 :	Courbes des variations du pouvoir d'inhibition de la dégradation oxydative de la β -carotène pour les muscles des cinq espèces de poissons.....	46
Figure 48 :	Dendrogramme réalisé par une CAH illustrant la relation entre les muscles des cinq espèces de poissons en se basant sur leur pouvoir d'inhibition de la dégradation oxydative de la β -carotène.....	46
Figure 49 :	Courbes des variations du pouvoir d'inhibition de la dégradation oxydative de la β -carotène pour les coproduits des cinq espèces de poissons.....	47
Figure 50 :	Dendrogramme réalisé par une CAH illustrant la relation entre les coproduits des cinq espèces de poissons en se basant sur leur pouvoir d'inhibition de la dégradation oxydative de la β -carotène...	47
Figure 51 :	Cercle de corrélation illustrant la distribution des différentes espèces de poisson en fonction de leurs pouvoir antioxydant de leur muscle et leurs coproduits.....	47
Figure 52 :	Histogramme d'activité anti-radicalaire en fonction de différents types d'extraits et des cinq espèces de poissons.....	49
Figure 53 :	Histogramme d'activité anti-radicalaire en fonction de cinq espèces de poissons marins de golf de Bejaia et en fonction des différents types d'extraits.....	49
Figure 54 :	Dendrogramme établi par une CAH illustrant la relation entre les différents types d'extraits en se basant sur leur pouvoir réducteur de DPPH.....	49
Figure 55 :	Dendrogramme établi par une CAH illustrant la relation entre cinq espèces de poissons marins de golf de Bejaia en se basant sur leur pouvoir réducteur de DPPH.....	49
Figure 56 :	Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits des muscles des espèces <i>S. aurita</i> et <i>P. erythrinus</i> contre <i>E.coli</i> (A et B) et <i>Klebsiella pneumoniae</i> (C).....	50

INTRODUCTION



INTRODUCTION

Le milieu marin constitue la plus grande partie de la biosphère et contient les formes les plus anciennes et variées de la vie. Plus de 500000 espèces de plantes et d'animaux ont été répertoriées à ce jour, sans compter le nombre bien plus considérable d'espèces microbiennes non identifiées. Ce milieu qui est un gisement de molécules nouvelles, englobe des organismes avec immense potentiel de molécules originales d'intérêt biologique. Cependant, les biotechnologies marines restent encore à ce jour une piste très peu exploitée par les scientifiques (Lemerrier & *al.*, 2005).

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du «*stress oxydant*», qui se définit par un déséquilibre de la balance entre la formation des radicaux libres à caractère pro oxydants et le système de défense antioxydants. Ces radicaux libres sont une conséquence inévitable dans les organismes aérobies, produits pendant la respiration dans des circonstances quotidiennes normales, en permanence et en faible quantité comme médiateurs tissulaires (Mahadik & *al.*, 2001).

Bien que l'organisme vivant possède un système antioxydant interne qui permet la lutte contre l'excès de ses radicaux, mais ce système reste limité et ne contre pas toutes les agressions, d'où l'importance d'un apport en antioxydants tel que : les vitamines ; les caroténoïdes et les polyphénols (Favier, 2003).

La composition particulière de la chair de poisson, sa richesse en protéines hautement digestibles, en minéraux notamment en phosphore, iode et en vitamines, en particulier la vitamine D et E, et en acides gras polyinsaturés de la série (n-3), tels que l'acide eicosapentaénoïque (EPA) et l'acide docohexaénoïque (DHA), ont fait de lui un aliment d'une caractéristique nutritionnelle unique parmi les produits d'origine animale (Bajpai, 1993).

Toutefois, malgré ces qualités exclusives dotées par cet être vivant, les études portant sur les dosages des polyphénols et leurs rôles dans les différentes activités biologiques, demeurent très rares et voir même inexistantes. D'ailleurs, c'est la raison principale qui était à l'origine de cette motivation et la genèse de cette idée de recherche exposée dans la présente étude.

Alors, ce projet de travail s'inscrit comme une première initiative et contribution qui a comme :

- ✓ **Première réflexion** : La mise au point d'une méthode d'extraction des acides gras, chez cinq espèces de poissons marins les plus commercialisés dans la région de Béjaïa, par l'utilisation de deux protocoles d'extraction à savoir Soxhlet et Folch ;
- ✓ **Deuxième réflexion** : Une caractérisation préliminaire de ces acides gras par l'utilisation d'une Chromatographie en Phase gazeuse couplée à un Ionisateur de Flamme (CPG/FID) et d'une spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR), ainsi qu'une caractérisation minérale par l'utilisation d'une micro Fluorescence au Rayon X (μ XRF) ;

INTRODUCTION

- ✓ *Troisième réflexion* : Un dosage des polyphénols ; flavonoïdes et protéines totaux par l'utilisation de la technique spectrophotométrique ;
- ✓ *Dernière réflexion* : Une évaluation de l'activité antioxydant par le test de blanchissement de la β -carotène et le radical DPPH, suivit par l'étude de l'activité antimicrobienne des différents extraits.

Ce manuscrit alors, est subdivisé en trois parties essentielles. La première a été consacrée à une synthèse bibliographique portée principalement sur les valeurs et les apports nutritionnels apportés par la chair ainsi que les coproduits du poisson, des rappels sur l'équilibres de stress oxydatif/antioxydants. Alors que, la deuxième a été réservée pour l'explication des protocoles expérimentaux adaptés en réponse aux objectifs de cette l'étude. En dernier rang, nous avons exposé les différents résultats obtenus accompagnés de leurs discussions.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE



I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1. APERÇU SUR LES APPORTS NUTRITIONNELS ET LES COMPOSANTS BIOCHIMIQUES CHEZ LE POISSON

1.1. Apports nutritionnels du muscle

Le poisson joue un rôle très important dans la nutrition humaine en raison de ses qualités nutritionnelles et les effets bénéfique sur la santé des populations, mais aussi pour le vaste choix qu'il offre au niveau gustatif, de la texture ou de la forme sous laquelle il est commercialisé (Piclet, 1987). Les qualités nutritionnelles du poisson sont en général supérieures ou égales à celles de la viande (Médale & *al.*, 2003). Les apports nutritionnels du poisson sont divers on peut citer :

1.1.1. Apports en protéines

Le poisson présente un apport en protéines aussi de bonne qualité que la viande. Il contient en moyenne 20% (Piclet, 1987).

1.1.2. Apports en glucides

Le poisson à des teneurs en glucides très faibles (Piclet, 1987).

1.1.3. Apports en minéraux

Comme les viandes, le poisson apporte de calcium, le minerai le plus abondant dans le corps humain, qui fournit la force au dents et os et aussi il aide le corps dans la signalisation cellulaire (Lefevre et Bugeon, 2008). Il contient le phosphore, l'iode, mais moins riche en fer que la viande (Piclet, 1987). On trouve également le magnésium qui collabore le calcium pour former les minerais qui composent les os, en outre il aide dans le fonctionnement approprié de muscle, maintien la santé de cœur, et peuvent empêcher le développement du diabète de type 2 (Watanabe & *al.*, 1997).

1.1.4. Apports en vitamines

La pluparts des poissons sont aussi connus comme une source très importante de différents types de vitamines, il contient la vitamine A ou bien le rétinol qui préserve l'intégrité des tissus biologiques, empêche la sécheresse de la peau (Courcy, 2003). Il possède aussi la vitamine B surtout la vitamine B12, la vitamine E (tocophérol) qui est un antioxydant puissant, et la vitamine D qui est également abondante dans les poissons gras, qui aide à l'entretien des os en fixant les ions de ca^{2+} (Médale & *al.*, 2003).

1.1.5. Apports en lipides

Les poissons sont pour leur immense majorité moins gras que les viandes. La teneur est comprise entre 0,5 et 15%. Sur la base de cet apport, les poissons sont classés généralement en 3 groupes (Ewald & *al.*, 1998):

I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

- ✓ **Maigres** ; d'une teneur comprise entre 0,5 et 5%, tels que : le merlan, la sole, la dorade, la morue, la truite, le Colin ;
 - ✓ **Demi gras** ; d'une teneur comprise entre 5 et 10%, tels que : le maquereau, la sardine, le saumon, le thon ;
 - ✓ **Gras** ; d'une teneur supérieur à 10%, tel que : l'anguille, le hareng.
-

Cependant, la composition lipidique des poissons varie beaucoup selon l'espèce considérée et la saison de la pêche. Les lipides de la chair des poissons se caractérisent par leur richesse en acides gras polyinsaturés à longue chaîne (AGPI-LC) de la série oméga 3 ou n-3, en particulier l'acide eicosapentaénoïque (C20 :5 n-3 ou EPA) et l'acide docosahexaénoïque (C22 :6 n-3 ou DHA) plus élevées que les lipides des autres animaux.

L'abondance de ces acides gras à longue chaîne n-3 est une particularité du monde aquatique. Le phytoplancton, à la base de la chaîne trophique des animaux aquatiques, possède (à l'exception des chlorophycées) l'équipement enzymatique nécessaire à la synthèse d'acide alpha-linoléique (C18 :3 n-3), précurseur de l'EPA et du DHA (Médale & al., 2003).

1.2. Apports nutritionnels des coproduits

Les coproduits de poisson appelés également «*déchets de poissons* ou *sous-produits*», sont principalement composés de viscères, de têtes, d'arêtes et de peaux. Ils possèdent comme la chair les mêmes intérêts dans plusieurs domaines : économique, commercial, santé, agronomique et aquacultures (Antoine et Larnaud, 2003).

Ces coproduits sont aussi riches en plusieurs éléments importants, on peut citer : les vitamines A et D, les hydrolysats de protéines, de gélatine, de lécithine marines, chondroïtine sulfate, complément minéraux mais surtout des lipides et des acides gras essentiels qui sont les omégas 3 (Médale & al., 2003).

1.2.1. Apports en lipides

Parmi les éléments les plus importants qu'on peut extraire à partir du mélange de différents coproduits, riches en lipides, on trouve les huiles qui constituent une source principale d'acides gras : oméga 3 et oméga 6. Chez les poissons gras ou semi-gras, les lipides sont présents dans toutes les fractions avec une concentration plus importante dans les tissus péri-viscéraux ou dans la tête. Par contre, les poissons maigres ont la particularité de concentrer leurs lipides dans le foie, qui sera donc la principale source d'omégas 3 et 6. En effet, cet organe est composé de plus de 60% de lipides en moyenne. Les chutes de filetage ou les œufs sont composés de moins de 5% de lipides, ces valeurs connaissent des fluctuations en fonction de la saison, de l'espèce et de l'habitat (Eymard, 2003).

1.2.2. Les acides gras omégas 3

Les omégas 3 sont des acides gras essentiels polyinsaturés à longue chaîne (Figure 1), indispensables à la bonne santé et au développement. Contrairement aux omégas 3 issus de sources végétales, les huiles d'animaux marins et celles extraites des algues contiennent de

I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

l'acide docosahexaénoïque (DHA ; C22 :6) et de l'acide éicosapentaénoïque (EPA ; C20 :5) à longue chaîne. Ils sont appelés acides gras essentiels parce que le corps ne peut les produire de manière autonome, si bien qu'ils doivent être consommés en quantité adéquate (Khandelwal & *al.*, 2010).

Les acides gras DHA et EPA qui sont contenus dans les huiles d'origine marine sont les précurseurs des prostaglandines, dont il a été démontré (Makrides & *al.*, 2006 ; Holub et Holub, 2004) :

- ✓ Qu'elles influent sur la constriction des vaisseaux sanguins ; Susceptibles de retarder le travail chez la femme enceinte ;
- ✓ Traitent de l'hypertension artérielle ; de l'hypercholestérolémie et d'obésité.

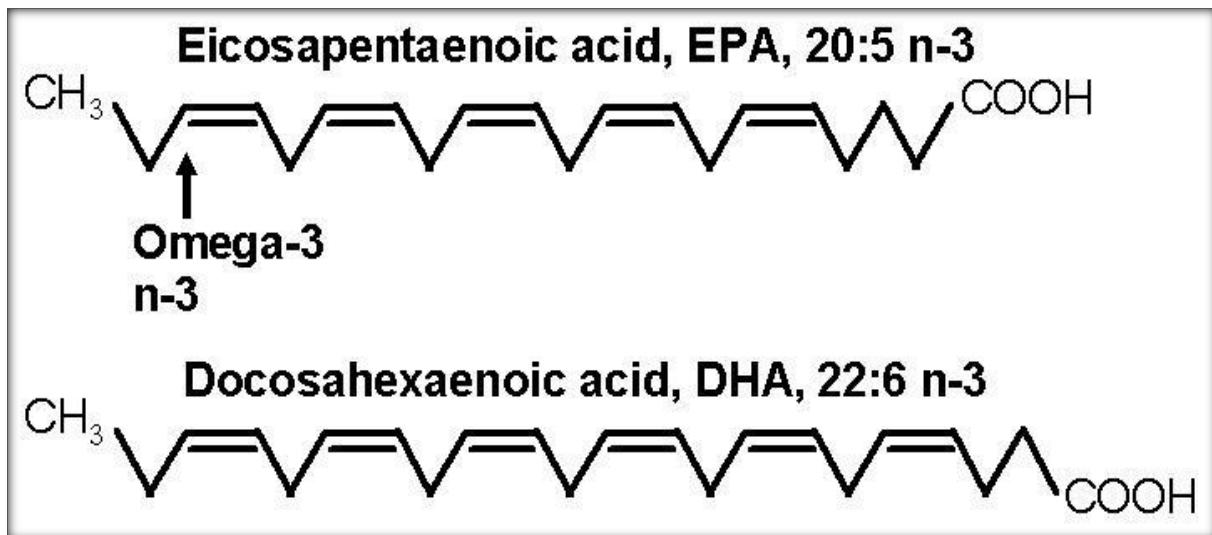


Figure 1 : La structure chimique de l'EPA et la DHA (Holub et Holub, 2004).

1.2.3. Les phospholipides

Les quantités les plus importantes de phospholipides dans les coproduits marins sont trouvées dans les têtes, mais également, en saison favorable, dans les œufs de poisson (Falch & *al.*, 2006).

Le rôle essentiel des phospholipides est divers :

- ✓ Leur pouvoir émulsifiant ;
- ✓ La solubilisation de composés lipophiles ;
- ✓ Possèdent des activités antibactériennes, cytotoxiques et antiprolifératives, leur donnant un rôle potentiel dans la lutte contre le cancer ;

I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

- ✓ Ils peuvent également être synthétisés, dérivés ou conjugués pour donner naissance à des composés actifs : activité antivirale ou anti tumorale.

Ces différents rôles ont été démontrés par les travaux de : Unger et Eibl, (1991) ; Calder *et al.* (1998) ; Ewald & *al.* (1998) ; Hwang & *al.* (2000) ; Cox *al.* (2002) ; Médale & *al.* (2003) ; (Holub et Holub, 2004) ; Larsson & *al.* (2004) ; Schmidt & *al.* (2004) ; Calvert, (2005) ; Ghedira, (2005) ; Kucera & *al.* (2009) ; Wang & *al.* (2013) .

Les polyphénols

Le poisson est considéré comme une bonne source de certains polyphénols naturels, car il contient avec des quantités considérables de la vitamine A et E, une source de caroténoïde pour certaines espèces marines, aussi l'existence de certains minéraux comme le zinc et le sélénium (Bragadóttir, 2001).

Des études récentes ont déterminé des teneurs remarquables en caroténoïdes et en polyphénols totaux dans des huiles de foie de quelques espèces marines, et qui sont dotés d'un pouvoir antioxydant (Manach & *al.*, 2004).

1.3. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires caractéristiques chez les végétaux possèdent un squelette de base à 15 atomes de carbone constitués de deux cycles phényles, les cycles A et B, reliés par une chaîne à trois carbones (structure en C6-C3-C6). La chaîne en C3 entre les cycles A et B est communément cyclisé pour former le cycle C (Figure 2) (Bougandoura, 2011).

Les flavonoïdes sont capables d'exercer en plus des propriétés antioxydants, des propriétés anti-inflammatoires, antiallergiques et anti-ulcérogènes. Certains flavonoïdes ont également démontré un potentiel d'agent vasodilatateur. Ils ont été surnommés les «*modificateurs naturels des réponses biologiques*» (Lebreton & *al.*, 1967).

Chez le poisson aucune étude n'a rapporté la présence de ces composés que ce soit dans le muscle ou les coproduits.

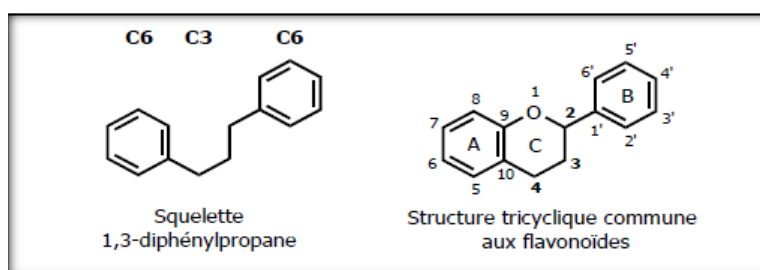


Figure 2 : Structures des flavonoïdes (Lebreton & *al.*, 1967).

I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

2. LE STRESS OXYDANT ET LES ANTIOXYDANTS

2.1. Le stress oxydant

L'oxygène est normalement transformé en molécules d'eau au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale. Cette réaction est cruciale puisqu'elle apporte à la cellule toute l'énergie nécessaire ; sous forme d'adénosine triphosphate (ATP) ; pour assurer ses multiples fonctions. Le processus n'est toutefois parfait car une faible partie de l'oxygène (2 à 5%) est convertie en espèces réactives d'oxygène (ERO) (Figure 3) (Favier, 2006).

Cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau des radicaux présents. Dans ce cas, la balance antioxydant/pro-oxydant est en équilibre. Une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive de ses radicaux oxygénés toxiques, définit un état du *stress oxydant*. Les ERO pourront dès lors s'attaquer à toute une série de substrats biologiques importants avec comme conséquence : la destruction de protéines, l'apparition de cassures au sein de l'acide désoxyribonucléique (ADN) et l'altération de la membrane cellulaire via l'induction de phénomène de peroxydation lipidique, impliquant dans le développement plus de 200 physiopathologies allant de l'athérosclérose au cancer en passant par le diabète, le SIDA ou toutes autres maladies à caractère inflammatoire (Favier, 2003).

Cette production excessive des radicaux libres, résulte de phénomènes toxiques exogènes, impose à l'organisme de se protéger par différents systèmes antioxydants (Favier, 2003).

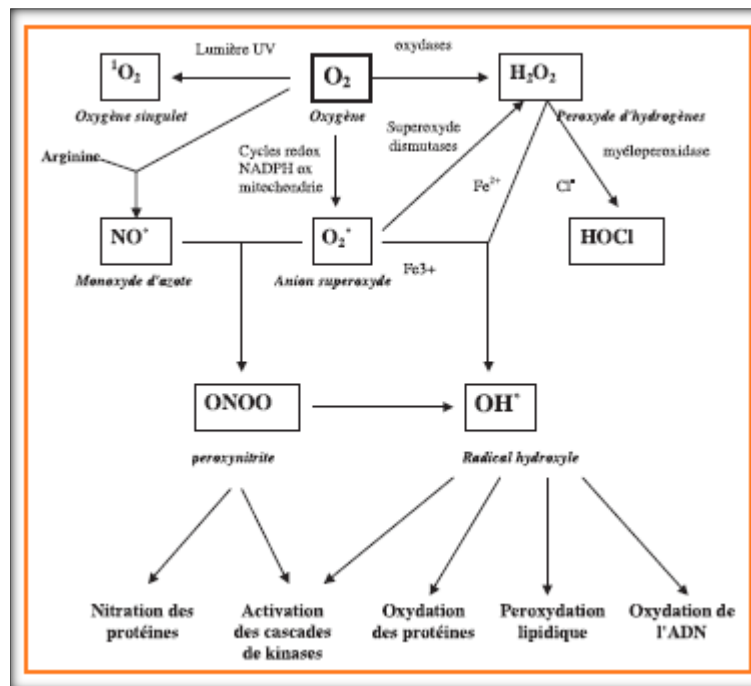


Figure 3 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie (Favier, 2003).

I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

2.2. Les antioxydants

Les antioxydants sont définis comme « toute substance qui en faible concentration par rapport aux substrats susceptible d'être oxydée prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat » (Huang & *al.*, 2000).

Le terme antioxydant englobe ainsi toutes les substances qui protègent les systèmes biologiques contre les effets délétères potentiels des processus ou réactions qui engendrent une oxydation excessive (Tirzitis et Bartosz, 2010).

Les antioxydants sont largement présents dans les aliments, soit sous forme naturelle, soit sous forme d'additifs utilisés dans l'industrie agroalimentaire (Vila-Gispert & *al.*, 2002).

Les plus connus sont le β -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques (Benbrook, 2005).

La plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxy phénoliques dans leurs structures, et les propriétés sont attribuées en partie à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres, tels que les radicaux hydroxyyles ($\text{OH}\cdot$) et superoxydes ($\text{O}_2\cdot$) (Bartosz, 2003).

Les antioxydants piègent les radicaux libres en inhibant les réactions à l'intérieur des cellules provoquées par les molécules de dioxygène et de peroxyde, aussi appelées espèces oxygénées radicalaires (EOR) et espèces azotées radicalaires (Benbrook, 2005).

Les antioxydants sont des molécules capables d'interagir sans danger avec les radicaux libres et de mettre fin à la réaction en chaîne avant que les molécules vitales ne soient endommagées. Chaque molécule antioxydant ne peut réagir qu'avec un seul radical libre et par conséquent, il faut constamment refaire le plein de ressources antioxydants (Tirzitis et Bartosz, 2010).

L'importance d'un système antioxydatif efficace est illustrée par la corrélation entre le stress oxydatif et certaines maladies, y compris des cancers, des maladies cardio-vasculaires et le diabète non insulino-dépendant (Bartosz, 2003).

2.3. Les antioxydants de type I

L'action des antioxydants de type I repose sur leur capacité à inactiver les radicaux libres. Ils inhibent la propagation des réactions radicalaires en fournissant des hydrogènes aux radicaux libres présents.



(AH : antioxydant et $\text{A}\cdot$: radical de l'antioxydant)

I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Les radicaux A[•] sont stables et ne possèdent pas l'énergie suffisante pour arracher un hydrogène aux lipides, la propagation s'arrête alors. Les composés phénoliques naturels : tocophérols, ou de synthèse : butyl-hydroxy-toluène (BHT), gallate de propyl appartiennent à cette classe d'antioxydants. L' α -tocophérol naturel ou de synthèse est l'antioxydant le plus utilisé. Les tocophérols existent naturellement sous forme de quatre isomères : α , β , δ , γ . L'efficacité d'un antioxydant peut être augmentée par l'utilisation d'un mélange des isomères du tocophérol (Kortenska & al., 2002).

2.4. Les antioxydants de type II

Ce type d'antioxydant prévient la formation des radicaux libres et peut intervenir par différents mécanismes. Certains chélatent des ions métalliques réduisant l'effet Pro-oxydant des ions, c'est le cas des acides phosphoriques et citriques. De même, des chitosans, polymères constitutifs des carapaces de crabes, ont montré une activité antioxydant sur la chair cuite de hareng (*Clupea harengus*) conservée 12 jours à 4°C. Cette activité antioxydant est attribuée à la propriété de ces bio-polymères à former des complexes avec les métaux de transition (Bougandoura, 2010).

L'acide ascorbique a une activité antioxydant à des concentrations supérieures à 0,5% tandis qu'il possède un effet pro-oxydant à faible concentration : (0,02 à 0,03)% (Decker et Xu, 1998).

2.5. Les antioxydants de type III

Ils regroupent les facteurs de l'environnement qui ont une action antioxydant en agissant sur le potentiel redox du milieu, la température, la pression en oxygène, la lumière. L'emballage des produits permet ainsi de minimiser l'exposition à l'air et à la lumière. La mise sous vide permet de limiter les réactions d'oxydation et donc de prolonger la durée de vie des produits. L'emballage peut également être réalisé sous atmosphère modifiée (azote ou CO₂), méthode efficace mais peu utilisée (Kortenska & al., 2002).

3. LES ACTIVITES ANTIOXYDANTS ET ANTIRADICALAIRES

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 ceux qui sont aromatiques (Phénylalanine, Tyrosine, Tryptophane), l'histidine avec son noyau aromatique et les acides aminés avec une fonction thiol (Cystéine) peuvent agir en tant que donneurs de protons (Mendis & al., 2005).

Des chercheurs ont montré que le traitement enzymatique de peaux ou de craquasses du poisson fournit également divers peptides antioxydants, d'autres de ces peptides ayant par

I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

ailleurs été isolés à partir de jus de cuisson de thon ou de sauces fermentées de poissons ou de moules (Wu & *al.*, 2008).

D'autres études ont montrés l'efficacité de la vitamine E (tocophérol) comme étant le principal antioxydant essentiellement l' α -tocophérol liposoluble, puissant antioxydant mais qui peut avoir des effets délétères à très fortes doses (Médale & *al.*, 2003).

Le sélénium lui aussi a été identifié comme un neutraliseur des métaux toxiques en particulier le plomb et le mercure. Il aurait aussi une action préventive sur certains cancers (Watanabe & *al.*, 1997).

Les radicaux libres sont des espèces chimiques qui possèdent un électron non-apparié (célibataire) sur leur couche orbitale externe. Ils sont susceptibles de dégrader par oxydation les molécules biologiques et seraient impliquées dans le vieillissement cellulaire et divers états pathologiques : inflammation, athérosclérose, cancer.

Les radicaux libres sont très instables de par leur configuration électronique et leur durée de vie est très courte (environ 10⁻⁴s). Leur réactivité réside dans le fait qu'ils recherchent un électron pour réappairier leur électron célibataire, entraînant la propagation du phénomène par création d'un nouveau radical libre. Il se produit ainsi des réactions en chaîne qui peuvent aboutir à des dénaturations ou destructions au niveau cellulaire (Gardès-Albert & *al.*, 2003).

Les radicaux libres peuvent être produits par notre propre organisme au cours de réactions particulières, il s'agit de la voie endogène, comme ils peuvent également avoir une origine exogène liée à notre environnement. Le radical-balayage libre est un mécanisme primaire par lequel les antioxydants empêchant des processus oxydants.

L'analyse de radical balayage de DDPH est une méthode largement répandue pour évaluer la capacité des hydrolysats, de nettoyer les radicaux libres produits du réactif de DDPH. C'est un radical libre stable qui montre l'absorbance maximum à 517nm en éthanol quand le radical de DPPH rencontre un substrat dedans tel qu'un antioxydant, le radical est nettoyé et l'absorbance est réduite (Rajapaks & *al.*, 2005).

4. ACTIVITES BIOLOGIQUES DES HYDROLYSATS DU POISSON

De nombreux articles portent sur les activités biologiques des peptides issus d'hydrolyses protéolytiques. Les peptides marins ne font pas exception. Des études récentes, telles que celles publiées par Bordenave & *al.* (2002) ; Kim et Mendis. (2006) et Wang & *al.* (2013), sur les composés marins bioactifs listent les différentes activités des peptides. Ainsi, ces derniers peuvent avoir des effets :

-
- ✓ Antihypertenseurs ;
 - ✓ Anti-thrombotiques ;
 - ✓ Immuno-modulateurs ;
-

I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

-
- ✓ Antioxydants ;
 - ✓ Anticoagulants ;
 - ✓ Anti radicalaire.
-

Les peptides marins interviennent également dans le traitement :

-
- ✓ De l'arthrite ;
 - ✓ De l'ostéoporose ;
 - ✓ Du diabète ;
 - ✓ Des maladies cardiovasculaires
 - ✓ De l'obésité
 - ✓ Dans le cas de certain cancer.
-

D'autres études ont été consacrées pour étudier les effets bénéfiques des huiles de poissons, de ce fait, de nombreuses activités biologiques ont été recensées pour ce dernier. Certaines études ont montré des propriétés anti-inflammatoires, dans l'huile de Sardine (Puglia & *al.*, 2005) et de poisson en général (Kim & *al.*, 2006 ; Maroon et Bost, 2006).

Sur les modèles marins, les huiles de poisson ont des actions diverses à savoir :

-
- ✓ Contre le développement de l'athérosclérose (Thériault, 2004) ;
 - ✓ Contre les ulcères ou dommages gastriques (Bhattacharya & *al.*, 2006) ;
 - ✓ Pour la régénération du foie après une ablation (Kirimlioglu & *al.*, 2006) ;
 - ✓ Contre la prolifération de cellules cancéreuses (Pizato & *al.*, 2006) ;
 - ✓ Pour l'amélioration de la mémoire (Tsai & *al.*, 2006).
-

Les huiles provenant d'anchois permettent aux rats qui ont été nourris de voir baisser leur taux de cholestérol, de triglycérides, de graisse abdominale par rapport à une alimentation comprenant de l'huile de soja (Kawabori & *al.*, 2013).

La supplémentation en huile de poisson du régime de chèvres gestantes et allaitantes permet l'augmentation de la proportion d'acides gras à longue chaîne de la famille des omégas 3 dans le colostrum et dans le lait (Cattaneo & *al.*, 2006).

5. LES ACTIVITES BIOLOGIQUES DES ACIDES GRAS DU POISSON

Les recherches sur les acides gras polyinsaturés se sont accrues depuis une vingtaine d'années, depuis la découverte de leurs actions préventives et thérapeutiques sur de nombreuses pathologies. Ainsi, les omégas 3 ont un effet bénéfique au niveau circulatoire dans la prévention et le traitement (Mortensen & *al.*, 1988 ; Barnerjee & *al.*, 1992):

-
- ✓ De l'artériosclérose ;
 - ✓ De la thrombose ;
 - ✓ De l'hypertriglycémie ;
-

I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

-
- ✓ Comme régulateur de la pression sanguine.
-

Un des rôles les plus étudiés des acides gras oméga 3 est sans doute leur action contre les maladies cardiaques (Holub et Holub, 2004 ; Brouwer & *al.*, 2006 ; Jacobson, 2006 ; Kawabori & *al.*, 2013).

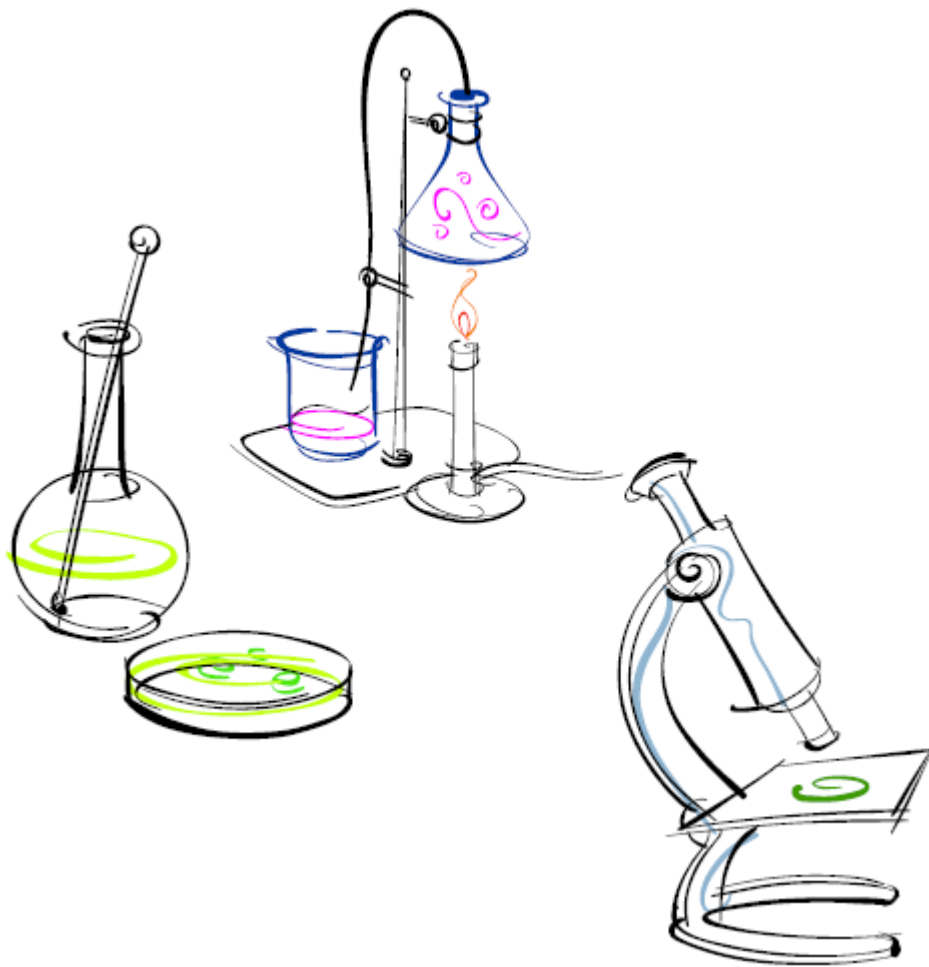
Les oméga 3 peuvent aussi intervenir dans l'inhibition de la genèse des carcinomes (Larsson & *al.*, 2004), ou dans le traitement des inflammations dues (Calder, 1998 ; Bajpai et Bajpai, 1993 ; Puglia & *al.*, 2005) :

-
- ✓ A l'asthme ;
 - ✓ A l'arthrite ;
 - ✓ Aux migraines ;
 - ✓ Au diabète ;
 - ✓ Aux fonctions immunes ;
 - ✓ Au psoriasis.
-

A partir de vingtième siècle, de nouvelles propriétés des acides gras oméga 3 et oméga 6 ont été découvertes. C'est ainsi que ces acides ont démontré un rôle :

-
- ✓ Contre la schizophrénie (Mahadik & *al.*, 2001) ;
 - ✓ Contre le stress et la dépression (Bourre, 2005) ;
 - ✓ Dans le bon développement fœtal (Weisinger & *al.*, 2001) .
-

MATERIEL ET METHODES



II. MATERIEL ET METHODES

1. LE MATERIEL BIOLOGIQUE/ POUDRE / EXTRACTION

1.1. Présentation des poissons

Dans cette étude on s'est intéressée à 5 espèces de poissons marins les plus consommés dans la région de Béjaïa. Ces poissons sujets d'étude ont été achetés, à l'état frais, au près des chalutiers du port de Béjaïa entre septembre et novembre 2015.

Ci-dessous est donnée une description concise de chaque espèce, tirée à partir de la base de données relative aux poissons *Fishbase.org*.

Espèce 1 : *Sardina pilchardus* (sardine), est une espèce qui appartient à la famille des Clupeides, d'ordre des Clupieformes. Il se distingue facilement de la Sardinelle par les stries bien visibles ornant l'opercule. Ce poisson nage en grand blanc et le long de la côte ouest de l'Europe et en Méditerranée. Sa longueur variant de 15 à 20 cm.



Espèce 2 : *Sardinella aurita* (Allatch ou Sardinelle), est un poisson du genre *Sardinella*, se distingue par l'absence de stries operculaires et la présence d'une carène ventrale. L'Allatch est plus grand que la Sardine, sa taille varie de 18 à 30 cm.



Espèce 3 : *Engraulis encrasicolus* (Anchois), c'est une espèce qui appartient à la famille des Engraulides, d'ordre des Clupéiformes. Il s'agit d'un petit poisson osseux, qui se caractérise par une longueur variant de 12 à 13 cm, avec un dos vert bleu foncé, des flancs et ventre argenté et une bouche largement fendue.



Espèce 4 : *Pagellus erythrinus* (pageau rose), est un poisson dont la longueur commune est de 15 à 20cm. Il est caractérisé par un corps comprimé latéralement d'une forme ovale allongée, son dos est d'une coloration rose vif, les flancs sont argentés. Ainsi que la présence d'une bande rose vif abondant l'opercule.



Espèce 5 : *Thrachurus trachurus* (Saurel) est un poisson pélagique téléostéen de la famille des Carangides. D'une taille variant entre 20 et 40 cm. Il se distingue par son corps comprimé latéralement, la ligne latérale principale protégée par une rangée de large écailles épaisses en écusson, qui s'infléchit fortement à mi-longueur, une 2^{ème} ligne latérale, au-dessus de la 1^{er}, s'étend très en arrière de la 1^{er} nageoire dorsale.



II. MATERIEL ET METHODES

1.2. Préparation de la poudre de poisson

La poudre des cinq espèces de poisson a été obtenue en respectant les étapes suivantes :

- ✓ Elimination des coproduits, à savoir les : têtes, viscères, queues et nageoires de chaque individu ;
- ✓ La chair isolée (Figure 4A) a été déchiquetée et mise dans des boîtes de pétri en plastique, couvertes de papier cellophane troué pour assurer l'aération (Figure 4B) ;
- ✓ Ces échantillons ont été congelés pendant 48h à une température de -18°C ;
- ✓ Ensuite passés à la lyophilisation pendant 8h (parfois la lyophilisation se déroule en raison de 2 à 3 rotations selon l'état des échantillons) (Figure 4C) ;
- ✓ Le lyophilisat obtenu est conservé pendant quelques heures dans le dessiccateur pour la perfection du séchage ;
- ✓ Ce dernier a été broyé à l'aide d'une moulinette électrique (Figure 4D) ;
- ✓ Enfin, un tamisage a été effectué afin d'avoir une poudre homogène de $500\mu\text{m}$ de diamètre (Figure 4E).

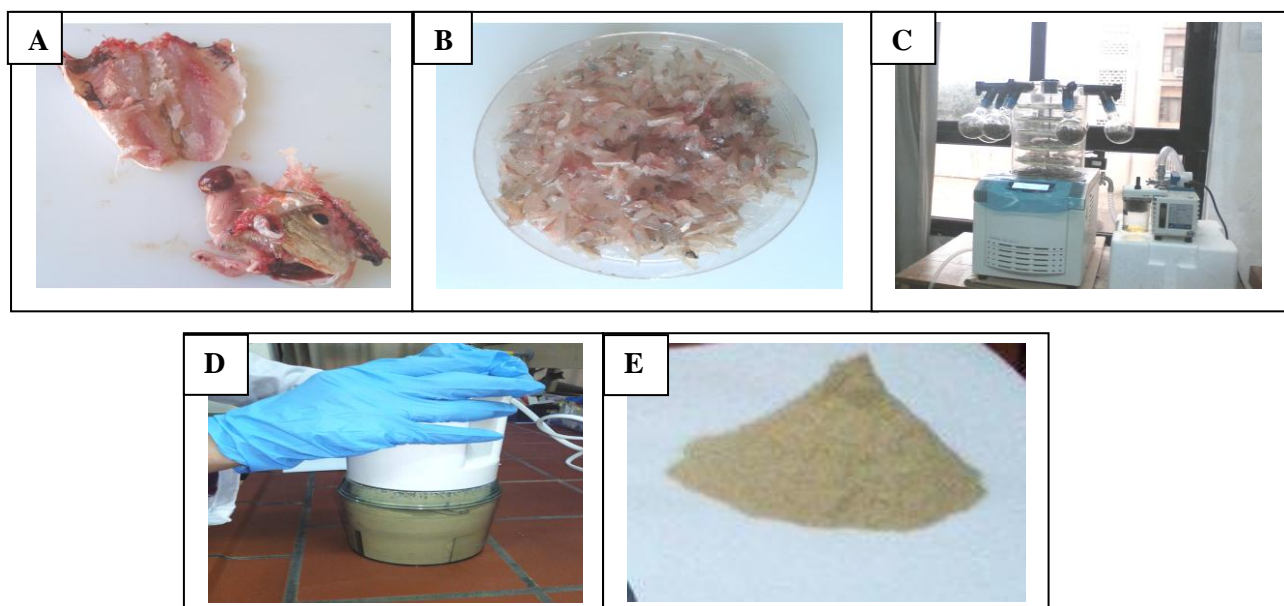


Figure 4 : Etapes de la préparation de la poudre de poisson.

A/ Isolement de la chair ; **B/** Rangement des échantillons dans des boîtes de pétri ; **C/** Lyophilisation ; **D/** Broyage ; **E/** Récupération d'une poudre homogène.

II. MATERIEL ET METHODES

1.3. Extraction des acides gras par solvants organiques

C'est une extraction basée sur la solubilité entre les lipides et les composés non lipidiques. Les effets conjugués de la polarité des solvants et la solubilité des lipides permettent leur isolement des autres constituants tels que les protéines.

1.3.1. Extraction par la méthode de Soxhlet

Principe

Dans cette méthode d'extraction à chaud ou par reflux, l'huile en se dissolvant dans le méthyle butane est filtrée puis récupérée après évaporation sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif. L'huile exempte de solvant est pesée et le rendement à l'extraction est déterminé (Beddih & *al.*, 2004). Dans ce présent travail nous avons remplacé le méthyle butane par de l'hexane.

Mode opératoire

- ✓ Ce qui est de l'appareil : (1) Une ouverture des robinets est nécessaire afin d'éliminer la pression d'eau. (2) Montage des accessoires indispensables pour l'extraction, à savoir les siphons, les cartouches et les ballons (Figure 5A) ;
- ✓ Une fois fait, on verse dans chaque siphon 150ml du solvant d'extraction : l'hexane ;
- ✓ On rajoute 75ml du même solvant, cette quantité additionnelle permet de réduire la décomposition thermique de la matière grasse sous l'effet de la chaleur ;
- ✓ On met en marche l'appareil et on ajuste la température à 100°C, et une fois que l'hexane, qui se trouve à l'intérieure des ballons est atteint son point d'ébullition, on baisse la température à 60°C (Figure 5B) ;
- ✓ L'extraction est complètement achevée, lorsqu'on constate que le solvant dans lequel la cartouche est imbibée devient transparent.

Après l'extraction :

- ✓ Les ballons sont récupérés ;
- ✓ Laissés refroidir à température ambiante ;
- ✓ Passés à l'évaporateur rotatif pendant 20min à une température entre 40 et 60°C, afin d'évaporer l'hexane et récupérer uniquement la matière grasse (Figure 5C) ;
- ✓ Une fois refroidi à température ambiante, les ballons sont pesés à l'aide d'une balance analytique, et l'extrait final est met dans des flacons en plastique (Figure 5D).

II. MATERIEL ET METHODES

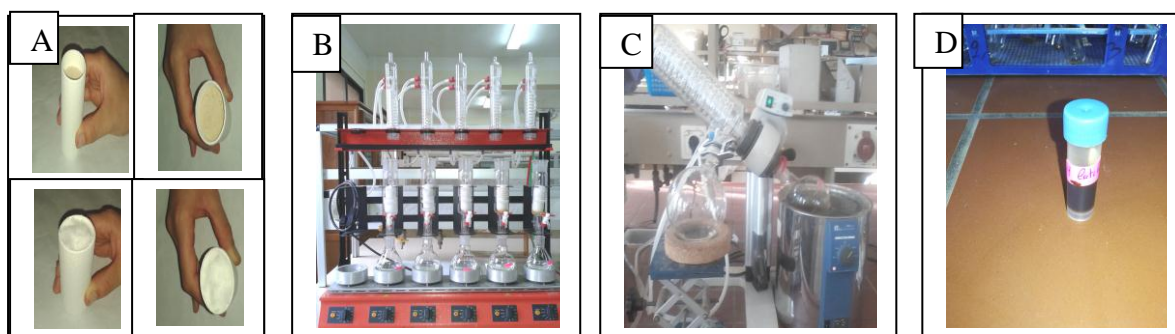


Figure 5 : Etapes d'extraction des acides gras par Soxhlet

A/ Préparation des cartouches ; **B/** Extraction par Soxhlet ; **C/** Evaporation du solvant d'extraction ; **D/** Extrait final.

Expression des résultats

La teneur en matière grasse totale de l'échantillon est calculée ainsi :

$$\text{Matière grasse \%} = \frac{M2 - M0}{M1} \times 100$$

- $M0$: Masse en gramme du ballon vide.
- $M1$: Masse en gramme de la prise d'essai.
- $M2$: Masse en gramme de ballon après extraction et séchage.

1.3.2. Extraction par la méthode de Folch

Principe

C'est une technique basée sur une extraction à froid par le chloroforme associé au méthanol (Folch & al., 1957).

Mode opératoire

- ✓ On pèse 5g de la poudre de chaque espèce de poisson ;
- ✓ Les poudres sont mises dans 5 béchers différents, avec ajout de 30ml de méthanol dans chacun ;
- ✓ On soumet à agitation les béchers pendant une heure ;
- ✓ On ajoute au mélange 60ml du chloroforme ;
- ✓ On remet à agitation également pour une heure ;

II. MATERIEL ET METHODES

Le mélange récupéré sera sujet de deux procédés distincts :

Procédés 1

- ✓ Le mélange est filtré à l'aide d'un papier filtre ;
- ✓ Le filtrat est ensuite transféré dans une ampoule à décanter, avec ajout de 0,2V de NaCl en solution à 0,7% ;
- ✓ Après 24h, les deux phases sont séparées ;
- ✓ La phase inférieure (organique) est récupérée dans un ballon et passée à l'évaporateur rotatif à 50°C, afin d'éliminer partiellement le solvant et avoir un extrait concentré en matière grasse ;
- ✓ Ce dernier est analysé par une chromatographie en phase gazeuse (CPG).

Procédés 2

- ✓ Le mélange cette fois-ci est filtré sous aspiration et sous vide sur un verre fritté n°3 ;
- ✓ Le filtrat est ensuite transféré dans une ampoule à décanter avec ajout de 0,2V de NaCl en solution à 0,7% ;
- ✓ Après 24h, les deux phases sont séparées ;
- ✓ La phase inférieure (organique) est récupérée dans un ballon et passée à l'évaporateur rotatif à 50°C, afin de déterminer la teneur en matière grasse.

Expression des résultats

La teneur en matière grasse totale de l'échantillon a été calculée ainsi :

$$\text{Matière grasse \%} = \frac{M2 - M0}{M1} \times 100$$

- *M0 : Masse en gramme du ballon vide*
- *M1 : Masse en gramme de la prise d'essai*
- *M2 : Masse en gramme de ballon après extraction et séchage.*

Une fois que cette teneur est déterminée :

- ✓ On rajoute 10ml du solvant récupéré lors de l'évaporation pour liquéfier l'extrait dans les ballons ;
- ✓ Le volume totale de l'extrait est divisé en deux fractions : **(1)** une pour tester les activités biologiques ; **(2)** l'autre pour l'analyse chromatographique en phase gazeuse.

NB : *l'extraction par Folch est récapitulée dans la figure 6.*

II. MATERIEL ET METHODES

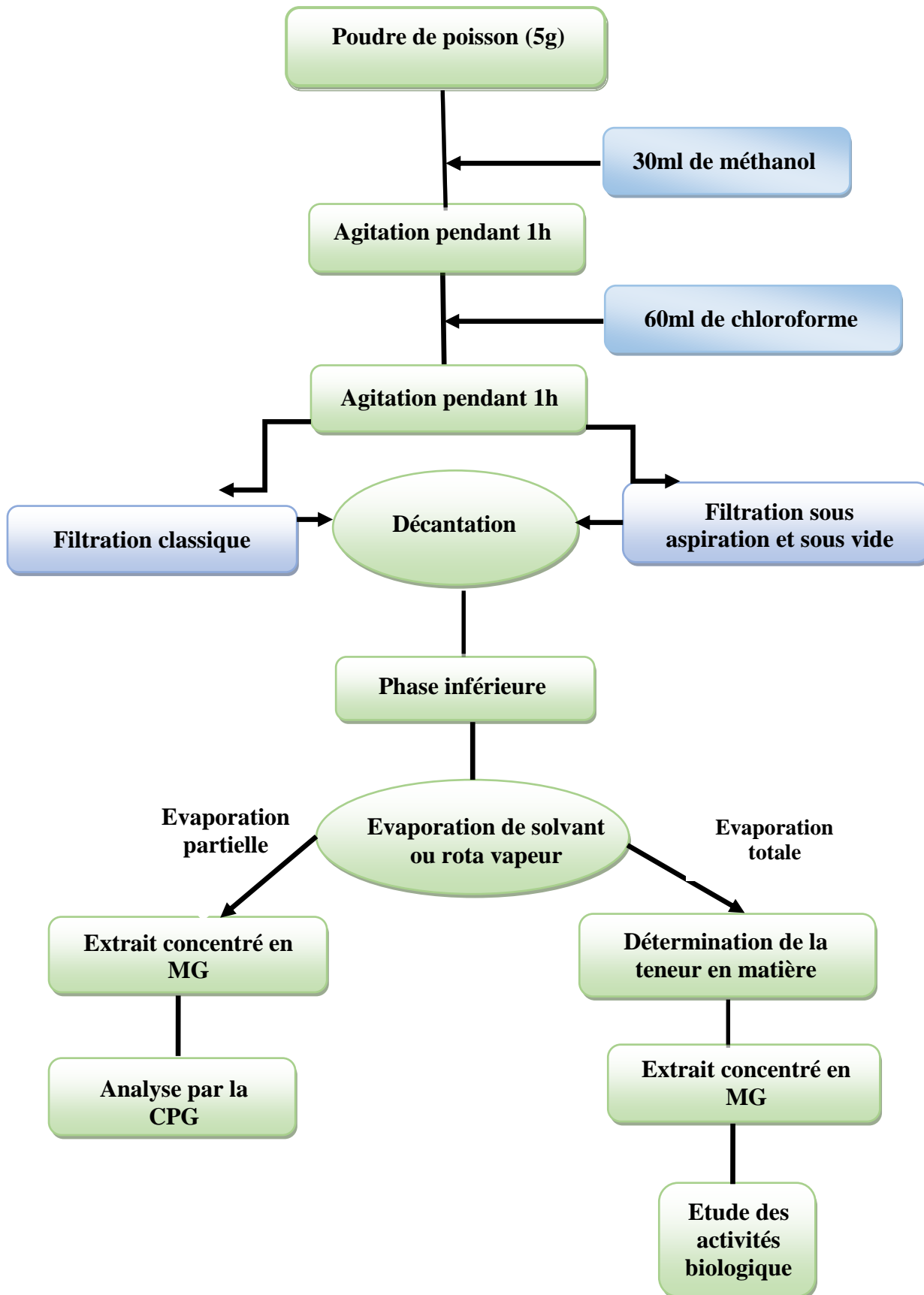


Figure 6 : Schéma récapitulatif d'extraction de la matière grasse par la méthode de Folch.

II. MATERIEL ET METHODES

2. CARACTERISATION DES ACIDES GRAS ET DES MINERAUX

2.1. Analyse chromatographique en phase gazeuse (CPG)

Principe

La chromatographie en phase gazeuse repose sur les mêmes principes que la chromatographie sur papier ou sur couche mince : ce peut être une chromatographie de partage (le plus fréquemment) ou d'adsorption. La séparation des constituants d'un mélange se fait à chaque niveau, le long d'une colonne tubulaire, par l'affinité différentielle des composants du mélange, entraînés par un éluant : le gaz vecteur, vis-à-vis d'une phase stationnaire. La phase fixe peut être solide : CGS, ou liquide : CGL (elle recouvre alors les particules du support solide). (Jonsson, 1987).

Réactifs et matériel

- ✓ NaOH 0,5 mol/l dans le méthanol ;
- ✓ Trifluorure de bore dans le méthanol ;
- ✓ Solution saturée de chlorure de sodium ;
- ✓ Ether de pétrole ;
- ✓ Mélange d'esters méthylés d'acides gras témoins : C12 : 0 ; C14 : 0 ; C16 : 0 ; C18 : 0 ; C18 : 1 ; C18 : 2 ; C18 : 3 ; C20 : 0 ;
- ✓ Ballon à saponifier ;
- ✓ Réfrigérant ascendant ;
- ✓ Anneau de lestage ;
- ✓ Ampoule à décanter ;
- ✓ Bain mari 60° C ;
- ✓ Plaque chauffante ;
- ✓ Microseringue de 5 µl ;
- ✓ Chromatographe Autosystem XL Perkin Elmer (Figure 7A et B) équipé de :

-
- ❖ Gaz vecteur : azote ;
 - ❖ Colonne remplie : DEGS 10 % sur chromosorb W HP 80/100 L 2 m Ø 1/8'' ou colonne capillaire : ELITE WAX Perkin Elmer L 15 m Ø 0,25 mm, phase stationnaire polyéthylène glycol (liquide et polaire) ;
 - ❖ Injecteur pour colonne remplie à injection directe ou injecteur split pour colonne capillaire ;
 - ❖ Détecteur FID.
-

Technique

Pour utilisation de la colonne capillaire :

Etape pré-analytique : saponification - estérification

- ✓ Peser dans un ballon à saponifier environ 0,6 g du corps gras à étudier ;
- ✓ Ajouter 5 ml de solution de soude méthanolique ;

II. MATERIEL ET METHODES

- ✓ Adapter le réfrigérant et porter 20 mn au bain-marie à 60° C sous la hotte ;
- ✓ Refroidir ;
- ✓ Ajouter 5 ml de BF₃ méthanol ;
- ✓ Porter à nouveau 20 mn au bain-marie à 60° C toujours sous la hotte ;
- ✓ Transvaser dans une ampoule à décanter, ajouter 30 ml d'éther de pétrole et 20 ml de NaCl saturé ;
- ✓ Agiter vigoureusement puis laisser décanter ;
- ✓ Rejeter la phase aqueuse ;
- ✓ Filtrer la phase organique dans un bécher de 250 ml ;
- ✓ Evaporer sur la platine chauffante à 100°C jusqu'à obtenir une goutte d'huile ;
- ✓ Reprendre par 6 ml d'éther de pétrole ;
- ✓ Filtrer dans un tube à essai ;
- ✓ Boucher le tube au parafilm sans agiter.

Etape analytique : CPG

- ✓ Régler le température injecteur CAP ;
- ✓ Régler la pression du gaz vecteur ;
- ✓ Régler le débit de fuite ;
- ✓ Régler la température du four ;
- ✓ Allumer le détecteur FID ;
- ✓ Injecté la solution ;
- ✓ Parallèlement, injecter le mélange d'esters méthylés d'acides gras témoins dans les mêmes conditions opératoires.

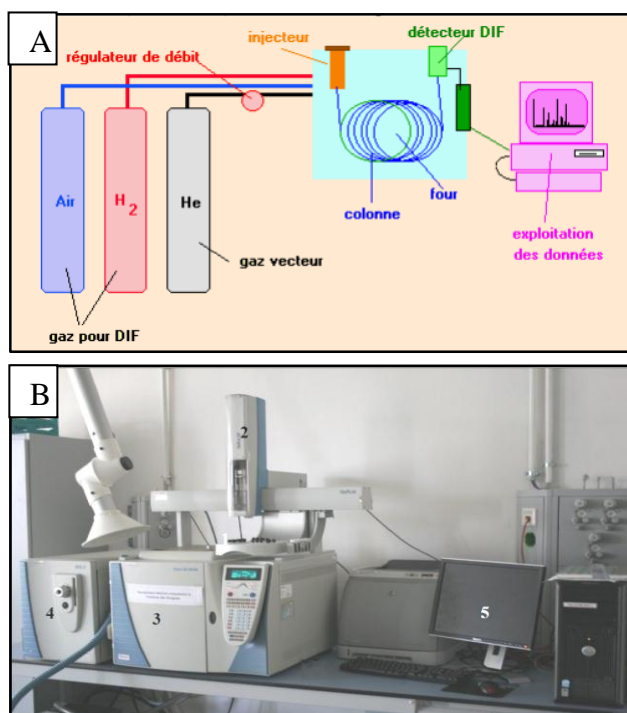
Résultats

Toutes les données sont traitées par le logiciel HPchem de Agilent technologies.

Figure 7 :

A/ Schéma général d'une Chromatographie en Phase Gazeuse couplé à un Détecteur à Ionisation de Flamme (Jonsson ,1987).

B/ Chromatographe en phase gazeuse, ionisation de flamme, **CPG-FID** (Photo prise à l'INCC, Alger).



II. MATERIEL ET METHODES

2.2. Analyse par spectroscopie Infrarouge a Transformée de Fourier (FTIR)

La spectroscopie Infrarouge à transformée de Fourier (ou FTIR : Fourier Transformed InfraRed spectroscopy) est une méthode d'analyse chimique qui est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau à analyser. Elle permet, par la détection de vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer l'analyse des molécules présentes dans l'échantillon. Cette méthode est l'une des méthodes la plus utilisée en raison de la non-destructivité, sa rapidité et sa facilité d'emploi (Mirabella, 1998).

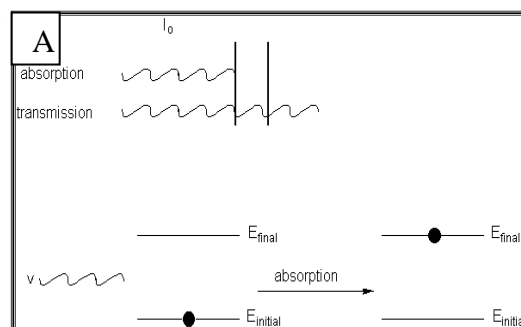
Principe

Cette méthode est basée sur l'absorption sélective des rayons infrarouges entre 4000 et 400 cm^{-1} en fonction de la structure chimique du composé. Elle permet d'identifier les groupes fonctionnels. L'absorption d'une radiation infrarouge aura pour effet de faire vibrer les molécules en modifiant les distances inter-atomiques ou les angles normaux de liaisons. La durée de vie de cette excitation est de l'ordre de 10 à 13 secondes, et l'ensemble revient rapidement à son état fondamental en restituant l'énergie sous forme de chaleur (Figure 8) (Bacsik & *al.*, 2004).

Figure 8 :

A/ Schéma de l'absorption d'une radiation infrarouge par une molécule (Mirabella, 1998).

B/ Photo de l'appareil NICOLET 6700 FTIR équipé d'un microscope (NICOLET CONTINU μM) prise à l'INCC.



Limite de détection/Performance de la méthode

La résolution standard du spectromètre est de 0.009 cm^{-1} .

Matériel / appareils / Equipement

- ✓ Spectromètre FTIR NICOLAT ;
- ✓ Microscope CONTINIUM.

II. MATERIEL ET METHODES

Mode opératoire

- ✓ Dans un mortier en agate, on mélange 0.5 à 2 mg de la substance à analyser avec 100 mg de dispersif (Kbr) ;
- ✓ Broyer très finement le mélange ;
- ✓ Mettre le mélange dans une pastilleuse ;
- ✓ Mettre le moule sous la presse ;
- ✓ Placer le tuyau pour faire le vide dans la connexion latérale du moule ;
- ✓ Fermer le circuit hydraulique ;
- ✓ Exercer une pression de 8 tonnes ;
- ✓ Allumer la presse pendant 2 à 5 minutes ;
- ✓ Arrêter la presse, ouvrir le circuit hydraulique ;
- ✓ Faire sortir les pastilles métalliques du moule en utilisant une bague d'extraction ;
- ✓ Séparer les deux pastilles de métal pour obtenir une pastille de solide qui devrait être transparente ;
- ✓ Placer la pastille dans le support pour le mettre dans le banc optique pour l'analyse FTIR.

2.3. Analyse par la micro fluorescence au rayon x (μ XRF)

La spectrométrie par micro fluorescence X (X-Ray Fluorescence) est une technique d'analyse élémentaire non destructive permettant d'identifier et de doser un ou plusieurs éléments chimiques.

La méthode μ XRF utilise comme source d'excitation un rayonnement X (en rhodium) qui ne permet pas de mesurer certains éléments légers au regard de la faible valeur de leur section efficace d'ionisation. C'est ainsi que la mesure des éléments allant de l'hydrogène ($Z = 1$) jusqu'au sodium ($Z = 14$) est impossible (Rindby & *al.*, 1967).

Principe

Quand un matériau est soumis aux rayons X, les atomes constituant le matériau peuvent subir une ionisation, c'est-à-dire qu'un ou plusieurs électrons peuvent être éjectés des couches électroniques de chacun de ces atomes.

L'atome est alors dans un état excité mais la perte d'un électron rend la structure électronique de l'atome instable. La désexcitation se fait par une transition électronique : un électron d'un niveau plus élevé « descend » pour occuper la case quantique à moitié vide. Cette transition électronique provoque l'émission d'un photon X qui sort de l'atome d'où le phénomène de la fluorescence X (Penen, 2015).

L'énergie du photon X émis est égale à la différence d'énergie des deux orbitales concernées. Il est donc caractéristique de l'atome où l'émission a été générée.

II. MATERIEL ET METHODES

Chaque élément chimique est caractérisé par des orbitales électroniques d'une certaine énergie. Il existe que de transitions électroniques possibles. Les couches électroniques s'appelant K, L, M, N, la transition L→K est traditionnellement appelée $K\alpha$, la transition M→K est appelée $K\beta$, la transition M→L est appelée $L\alpha$. Chacune de ces transitions génère un photon fluorescent avec son énergie caractéristique (Rindby & al., 1967).

Matériel / appareils / Equipement

μ XRF HORIBA XGT 5000 ;







Figure 9 : Photo de l'appareil micro Fluorescence des Rayons X HORIBA XGT 5000 prise à l'INCC.

Préparation des échantillons

L'échantillon ne nécessite pas une préparation particulière (puit direct comme poudre).

Mode opératoire

- ✓ Refroidir le détecteur SiLi avec l'azote liquide et le laisser se stabiliser environ 1 heure ;
- ✓ Allumer l'unité d'analyse HORIBA XGT 5000 ;
- ✓ Allumer le PC et ouvrir le logiciel ;
- ✓ Mettre l'échantillon sur le porte échantillon adéquat en utilisant un adhésif en carbone, s'assurer que la surface de l'échantillon est bien plane ;
- ✓ Placer le porte échantillon dans la chambre d'analyse ;
- ✓ Allumer la pompe à vide ;
- ✓ Cliquer sur  pour que le porte échantillon soit aligner avec la caméra ;
- ✓ Cliquer sur  pour avoir une vue globale de l'échantillon ;
- ✓ Cliquer sur  , à l'aide du curseur de la souris, se positionner sur le point d'analyse ;
- ✓ Ajuster la hauteur du porte échantillon à l'aide du bouton se trouvant sur l'appareil, en faisant attention à ne pas perforer le film ;
- ✓ Cliquer sur  pour visualiser les détails de la zone d'analyse, positionner le curseur de la souris sur le point à analyser ;
- ✓ Fermer le couvercle de la chambre d'analyse.

II. MATERIEL ET METHODES

3. DOSAGE DES POLYPHENOLS, FLAVONOIDES ET PROTEINES

3.1. Préparation des extraits

La préparation des extraits pour le dosage des polyphénols et des flavonoïdes, par macération à partir du muscle et des coproduits, a été effectuée selon le protocole décrit par Romani & *al.* (2006) avec des modifications lorsqu'elles sont jugées nécessaires.

Mode opératoire

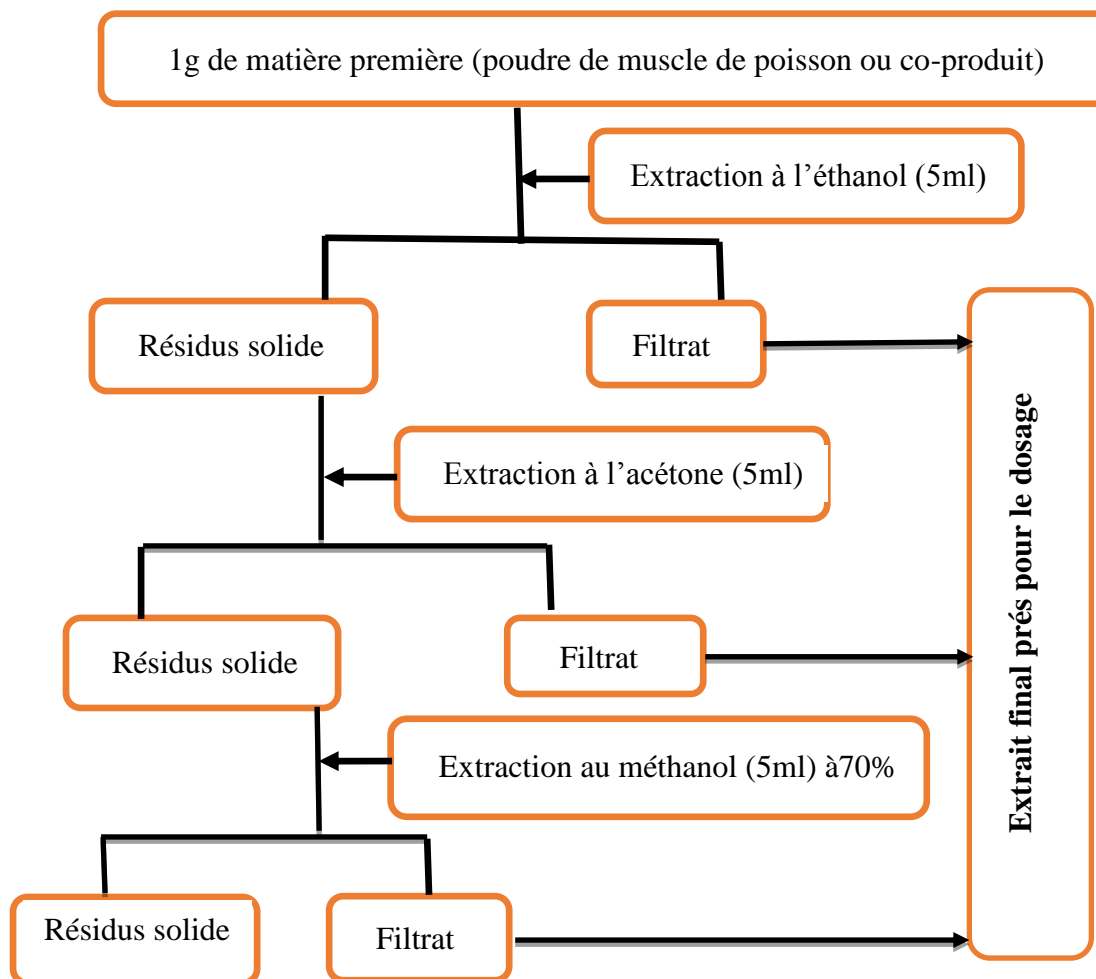


Figure 10 : Protocole modifié de Romani & *al.* (2006) pour la préparation des extraits par macération

3.2. Dosage des polyphénols

Les polyphénols sont estimés par la méthode de Folin Ciocalteu. Ce dosage repose sur le réactif de Folin Ciocalteu qui est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. L'oxydation des phénols réduit, ce réactif en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle au taux de composés phénoliques oxydés (Boizot et Charpentier, 2006).

II. MATERIEL ET METHODES

Mode opératoire

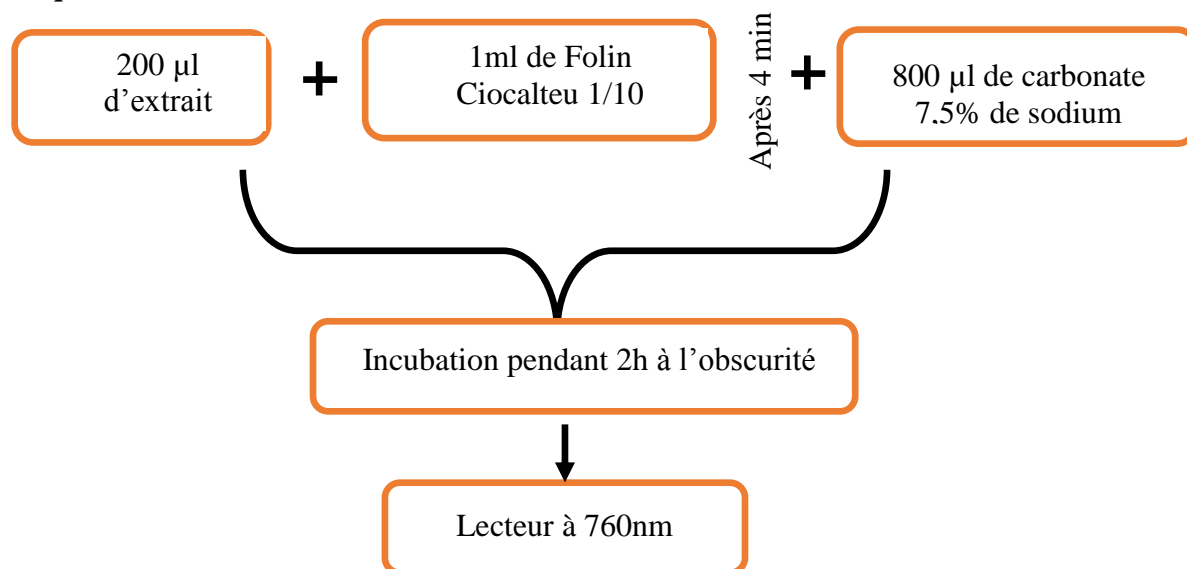


Figure 11 : Protocole de dosage des polyphénols selon Boizot et Charpentier (2006).

Les concentrations des polyphénols sont déduites à partir des gammes d'étalonnage établies avec l'acide gallique (0-200µg/ml) et sont exprimées en mg équivalent d'acide gallique par 100g de poudre (Annexe 1, Figure 1).

3.3. Dosage des Flavonoïdes

La méthode utilisée de trichlorure d'aluminium décrite par Bahorun & al. (1996)

Mode opératoire

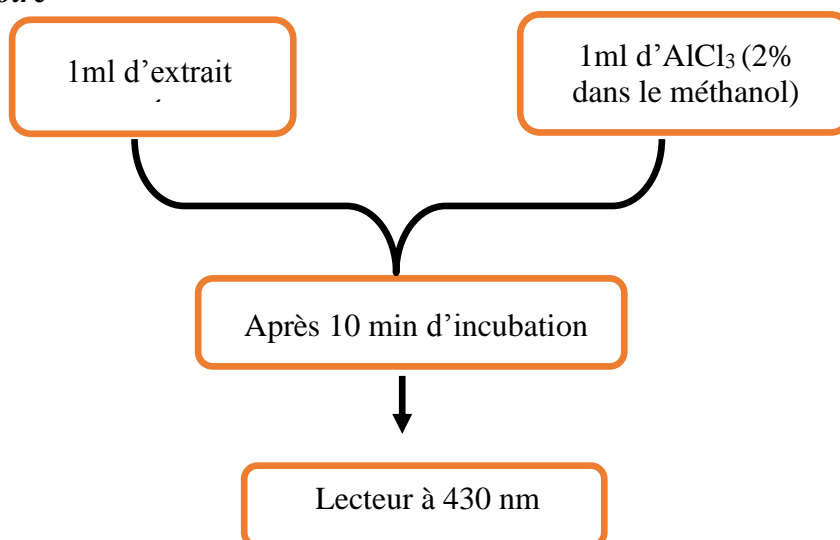


Figure 12 : Protocole de dosage des flavonoïdes selon Bahorun & al. (1996)

II. MATERIEL ET METHODES

Les concentrations des flavonoïdes sont déduites à partir des gammes d'étalonnage établies avec la quercétine (0-35µg/ml), et sont exprimées en exprimées en milligramme équivalent quercétine par 100g de poudre (Annexe 1, Figure 2).

3.4. Dosage des Protéines

3.4.1. Méthode de Bradford

Principe

La technique de Bradford (1976) a été utilisée pour doser les faibles quantités de protéine dans la solution enzymatique. Elle utilise du bleu de Coomassie G250 dont la forme leuco (brun orange) est convertie en forme bleue caractéristique du complexe formé entre les groupements NH_3^+ des protéines et ceux du réactif.

3.4.2. Méthode de Lowry

Principe

Les teneurs en protéine des solutions ont été dosées selon la méthode de Lowry & al. (1951). Les protéines réagissent avec le réactif de Folin-Ciocalteu pour donner des complexes colorés. Selon la composition en aminoacides des protéines à doser, la capacité de réduction du réactif de Folin est plus ou moins importante.

Mode opératoire

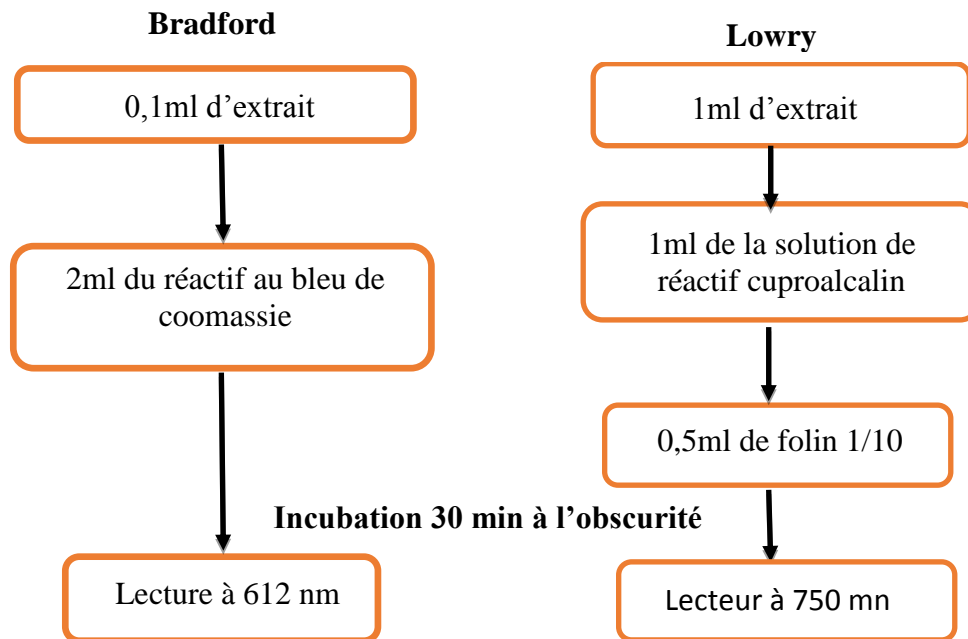


Figure 13 : Protocole de dosage des protéines par les deux méthodes Bradford et Lowry

La densité optique obtenue a été ensuite convertie en mg Sérum Albumine Bovine (BSA), grâce à une droite d'étalonnage préparée dans les mêmes conditions (Annexe 1, Figures 3 et 4).

II. MATERIEL ET METHODES

4. ACTIVITES ANTIOXYDANTS ET ANTIBACTERIENNE

4.1. Test du blanchissement du β carotène

L'activité antioxydant des extraits de poissons est mesurée selon la méthode de (Khartal & *al.*, 2007). Dans ce test la capacité antioxydant, est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydative de β carotène (décoloration) par les produits d'oxydation de l'acide linoléique.

L'émulsion de β carotène / acide linoléique est préparée :

- ✓ Par solubilisation de 12mg de β carotène dans 4ml du chloroforme, 0,1ml de l'acide linoléique et 0,4 de tween 80 ;
- ✓ Le chloroforme est complètement évaporé au rota vapeur ;
- ✓ Par la suite 400ml d'eau oxygénée est ajouté ;
- ✓ L'émulsion résultante est agitée vigoureusement ;
- ✓ 350 μ l de solution d'extrait ou antioxydant de référence (BHT) (solubilisé dans le méthanol (2mg/ml)) sont additionnés à 25 ml de l'émulsion précédente.
- ✓ La cinétique de décoloration de l'émulsion en présence et en absence d'antioxydant (contrôle négatif dans lequel l'échantillon est remplacé par 350 μ l de méthanol) est suivie à 490nm à des intervalles de temps réguliers pendant 48heures.

L'activité antioxydant relative des extraits (AAR) est calculée selon l'équation suivante

:

$$\text{AAR} = \frac{\text{Abs } t=48\text{h (échantillon)}}{\text{Abs } t=48\text{h (BHT)}} \times 100$$

4.2. Effet scavenger du radical DPPH

Afin d'étudier l'activité anti-radicalaire des différents extraits, nous avons utilisé la méthode basée sur le DPPH (diphényl picryl hydrazyl) comme un radical relativement stable, selon le protocole décrit par (Mansouri & *al.*, 2005).

Dans ce test les antioxydants réduisent le diphényl picryl hydrazyl, ce qui engendre un changement de coloration. Le diphényl picryl hydrazine, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu, a donné des protons (Sanchez-Moreno, 2002).

La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100ml de méthanol.

II. MATERIEL ET METHODES

Mode opératoire

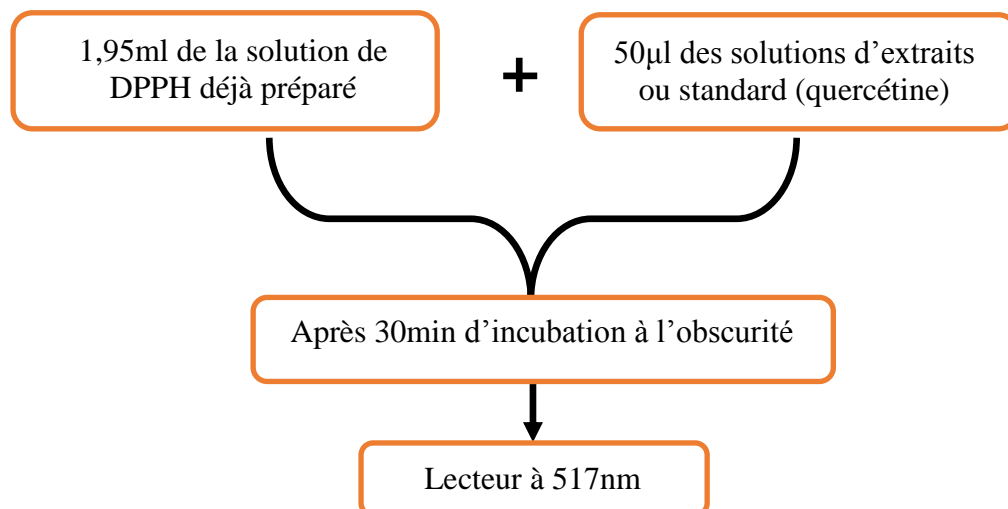


Figure 14 : Protocole de mesure de l'activité anti-radicalaire par le DPPH selon Mansouri & *al.*, (2005).

L'activité anti-radicalaire est estimée selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité anti-radicalaire} = \frac{[\text{Abs517 contrôle} - \text{Abs517 échantillon}]}{\text{Abs517 contrôle}} \times 100$$

4.3. Test antimicrobien

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne des extraits des poudres de poissons, nous avons utilisé la méthode de diffusion en milieu gélosé.

Le principe de cette méthode est ;

- ✓ D'utiliser des disques de papier Wattman de 6mm de diamètre ;
- ✓ Les disques ont été imprégnés dans différentes solutions (1g/ml) des extraits dissous dans le chloroforme pour les extraits lipidiques et le méthanol pour les extraits non lipidiques ;
- ✓ Pour les deux types d'extraits ; un disque imbibé soit par le chloroforme ou le méthanol ; ont été employé en tant que contrôle négative.
- ✓ Ensuite, ces derniers ont été déposés à la surface d'un milieu écouvillonné par une suspension microbienne.
- ✓ Nous avons utilisé pour les souches bactériennes le milieu Muller Hinton, et le milieu Saborand pour la levure et les moisissures.
- ✓ A la fin de la durée d'incubation (18-24h pour les souches bactériennes et 48h pour la levure et moisissures à 37°C), les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés (Ryu & al., 2006).

II. MATERIEL ET METHODES

5. ANALYSE DE DONNEES

Afin d'établir une meilleure visualisation des résultats et d'avoir des jugements objectifs, nous avons procédé par des représentations graphiques accompagnées d'un ensemble de tests statistiques.

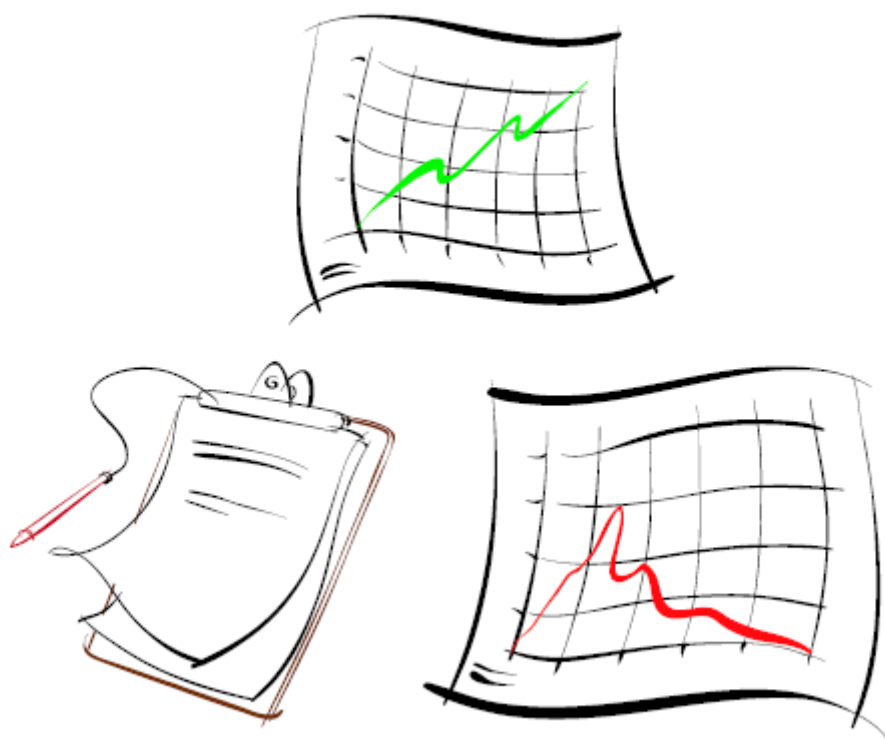
Par l'intermédiaire du programme Excel, nous avons réalisé au préalable différents histogrammes illustrant les variations et l'évolution des paramètres en fonction des composantes adéquates. Ces représentations ont été appuyées par l'application de la méthode de la Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) qui sert d'un outil statistique de classement afin d'en déduire les relations exactes entre les paramètres.

L'analyse globale en prenant tous les paramètres en même temps a été assurée par les cercles de corrélations obtenus lors de l'application d'une Analyse en Composantes Principales (ACP), qui s'intéresse plutôt à la relation simultanée entre plusieurs variables.

Pour l'évaluation de la significativité de la différence entre deux composantes nous avons utilisé le test de Student, alors qu'entre plusieurs nous avons appliqué l'analyse de la variance (ANOVA). Ce qui est de la significativité de la relation nous avons calculé les coefficients de corrélations de Spearman.

Cet ensemble d'analyse a été assuré par le logiciel Statistica 5.5 (1999).

RESULTATS ET DISCUSSIONS



III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

1. EVALUATION DU RENDEMENT D'EXTRACTION EN FONCTION DES METHODES ET DES POISSONS

Par simple observation de l'histogramme présenté en figure 15 on remarque une différence très apparente entre les deux méthodes d'extraction : Folch et Soxhlet et cela pour les cinq espèces de poissons étudiées. Cette différence est confirmée par l'application du test de Student, qui était significative au seuil d'erreur 5%. Il est à noter que les meilleurs rendements sont donnés par la méthode de Folch, évalués à 80,71% pour la totalité des espèces, alors que la méthode de Soxhlet avait enregistré seulement 19,29%.

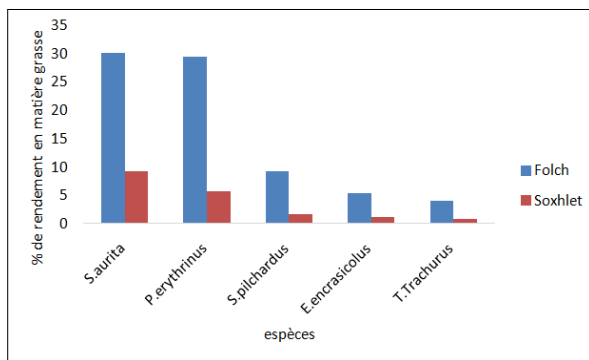


Figure 15 : Histogramme illustrant la variation du taux de rendement en matière grasse en fonction des deux méthodes d'extraction et des cinq muscles de poissons.

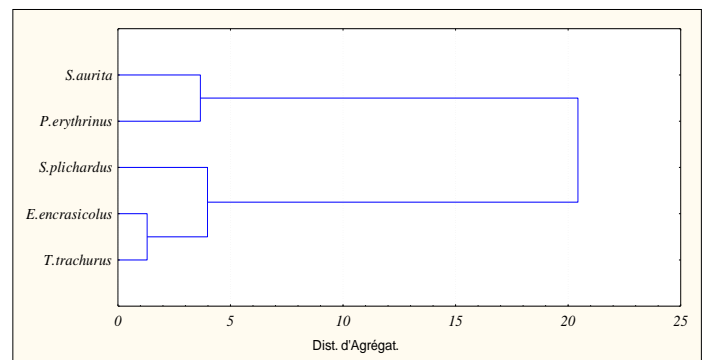


Figure 16 : Dendrogramme réalisé par une CAH illustrant la relation entre les cinq espèces de poissons en se basant sur le taux de rendement en matière grasse.

Cette différence d'extraction entre les deux protocoles a été déjà rapportée par Ewald & al. (1998) lors de l'extraction des lipides dans le muscle des espèces de poisson : *Clupea harengus* ; *Salamo salar* ; *Gadus morhua* et *Esox lucius*. L'efficacité était en faveur de la méthode de Folch avec un taux de 52,80% contre 47,20% pour la méthode de Soxhlet. Il a été également démontré par Xiao & al. (2012) que la méthode de Folch était la plus efficace avec un taux de rendement de 90% contre 30% pour la méthode de Soxhlet, lors de l'extraction des lipides à partir des poudres d'origine marines. Ainsi conclue Erberich & al. (2002) lors de l'extraction des lipides totaux par les deux méthodes : Folch modifié par Bligh et Dyer et Soxhlet, à partir de deux espèces de poissons d'eau douce : *Cichla ocellaris* et *Piaractus brachypomus*.

Lors de la comparaison des taux de rendement entre les cinq espèces de poissons, on déduit à partir de l'histogramme ci-dessus le classement suivant : *S. aurita* > *P. erythrinus* > *S. pilchardus* > *E. encrasicolus* > *T. trachurus*. Cette divergence dans les quantités du rendement a été mise en évidence par le test d'ANOVA qui a donné une différence significative au seuil d'erreur 5%.

L'application de la classification ascendante hiérarchique (CAH) (Figure 16) a permis d'établir un regroupement des espèces en fonction de leur similarité en taux de matières grasses contenu dans leur muscle. Les groupes sont donnés ainsi :

III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

- ✓ G1 : *T. trachurus* / *E. encrasicolus* avec une distance minimale de 1,3 Agrégats Euclidiens (AE).
- ✓ G2 : *S. aurita* / *P. erythrinus* avec une distance de 3,7 AE.
- ✓ A ces groupes s'attache l'espèce *S. pilchardus* comme élément intermédiaire.

NB : La matrice de distance est citée en annexe 2, tableau I.

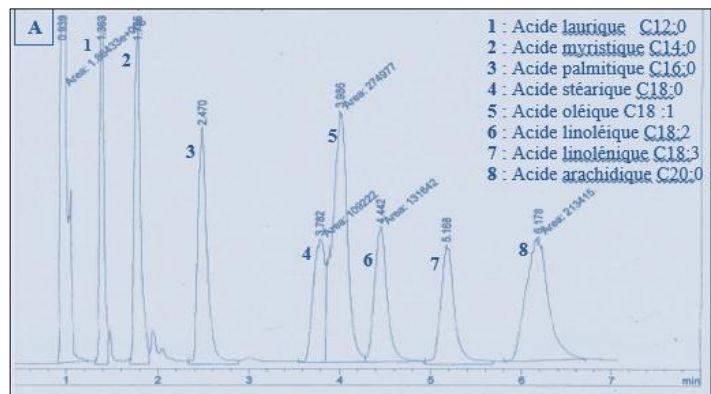
2. CARACTERISATION DES ACIDES GRAS ET DES MINERAUX

2.1. Analyse par Chromatographie en Phase gazeuse (CPG)

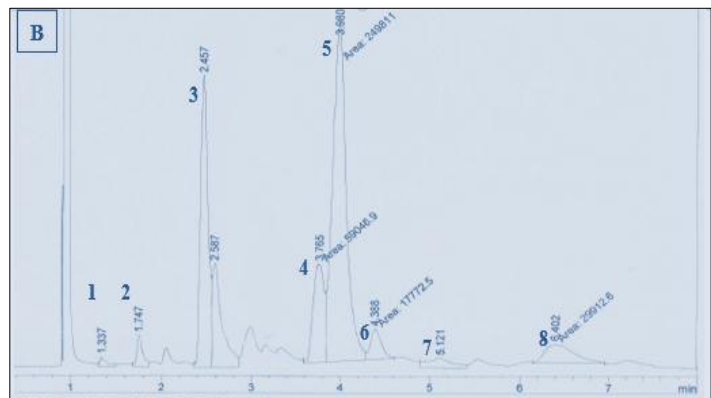
Les résultats relatifs à la caractérisation préliminaire des acides gras de deux espèces de poissons : *P. erythrinus* et *S. aurita* sont illustrés dans la figure ci-après :

Figure 17 : Profils chromatographiques d'esters méthyliques d'acides gras.

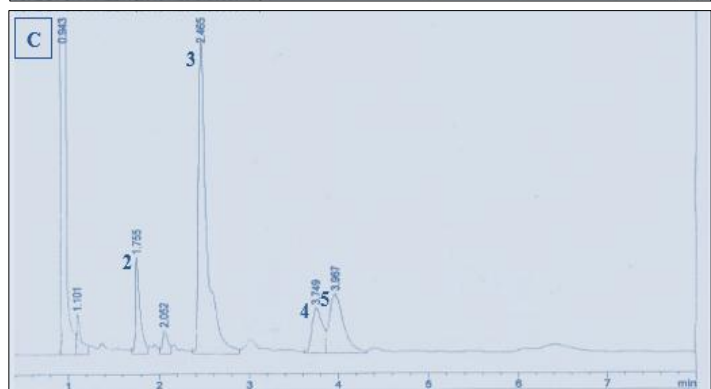
A/ Acides gras témoins.



B/ Huile de poisson de *P. erythrinus*.



C/ Huile de poisson de *S. aurita*.



III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

En se basant sur le temps de rétention comme critère d'identification des esters méthyliques d'acides gras, qui se trouvent dans les huiles des deux espèces de poissons étudiées (Figures 17 B et C), et on le comparant avec ceux des esters méthyliques d'acides gras témoins (Figure 17A). Il en ressort que l'huile de l'espèce *P. erythrinus* renferme tous les acides gras utilisés comme témoins, à savoir les acides : laurique C12:0 ; myristique C14:0 ; palmitique C16:0 ; stéarique C18:0 ; oléique C18 :1 ; linoléique C18:2 ; linoléique C18:3 ; arachidique C20:0.

Contrairement, aux résultats de l'analyse d'huile de l'espèce *S. aurita* qui montrent des pics relatifs aux acides gras : C14 :0 ; C16 :0 ; C18 :0 et C18 :1. Cette présence partielle d'acides gras chez cette espèce, classée comme poisson gras, peut être liée à l'état de la fraction d'huile analysée qui était trop concentrée en matière grasse d'où son aspect huileux. Caractérisé par une viscosité élevée, par conséquent on a assisté à un colmatage de l'échantillon lors de l'injection dans la colonne, et la phase mobile qui est l'azote (gaze vecteur) n'a pas pu emprunter ces molécules à travers la phase stationnaire, pour qu'elles puissent être séparées, d'où leurs non détection par le détecteur à ionisation de flamme.

Toutefois, une étude accomplie par Beddih & al. (2004) sur les lipide de la Boutargue du mullet à grosse tête (*Mugil cephalus*) en Tunisie, a révélé l'existence des acides gras ; C14:1 ; C16:0 ; C16:1;C18 :1 ; C18:2 ; C19:0 ; C20:5 ; C20:5 (EPA) ; C22:6 (DHA). Une autre étude faite par Li & al. (2015), a révélé également l'existence des mêmes acides gras témoins, utilisés dans ce présent travail, et cela chez trois espèces de poissons de rayon du golf de la Tunisie.

2.2. Analyse Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR)

Les spectres d'absorbance pour les cinq espèces de poissons sont représentés dans le domaine spectral allant de 3500 à 700 cm^{-1} est correspondant au moyenne IR comme suit :

Tableau I : Les bandes de vibrations du spectre 1 :

La position approximative de la bande (cm^{-1})	fragments
2925,2	-C-H (groupe CH_2)
2854,3	-C-H (groupe CH_2)
1743,3	-C=O (groupe ester)
1461,9	-C-H (groupe CH_2)
1377,5	-C-H (groupe CH_3)
1167,1	-C-O
1099,1	-C-O
722,2	-(CH_2) _n ; =C-H

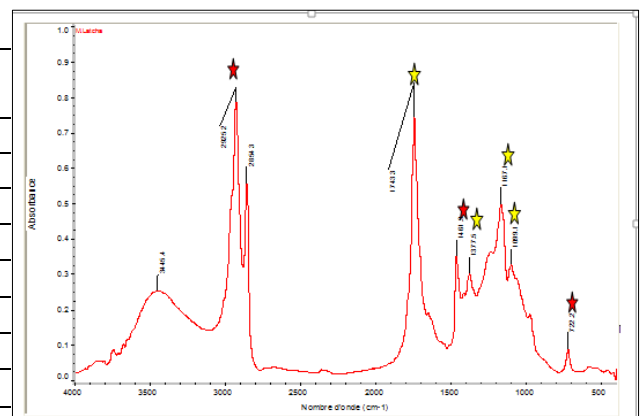


Figure 18 : Spectre de l'analyse par FTIR d'huile de *S. aurita* dans la région 4000-500 cm^{-1} .

III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

Tableau II : Les bandes de vibrations du spectre 2

La position approximative de la bande (cm ⁻¹)	fragments
2853,5	-C-H (groupe CH ₂ ;CH ₃)
1742,1	-C=O (groupe ester)
1462,0	-C-H (groupe CH ₂)
1377,2	-C-H (groupe CH ₃)
1262,2	-C-O ; CH ₂
969,6	=C-H (Trans)
722,2	-(CH ₂) _n ; =C-H

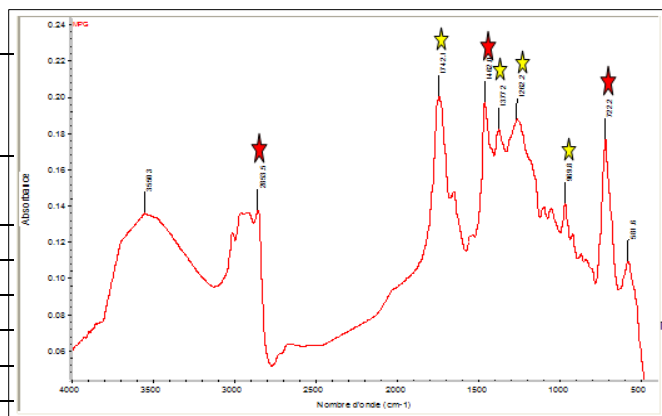


Figure 19 : Spectre de l'analyse par FTIR d'huile de *P. erythrinus* dans la région 4000-500cm⁻¹.

Tableau III : Les bandes de vibrations du spectre 3 :

La position approximative de la bande (cm ⁻¹)	fragments
2924,6	-C-H (groupe CH ₂)
2854,0	-C-H (groupe CH ₂)
1711,7	-C=O (groupe ester)
1403,2	-C-H (groupe CH ₂)
1376,8	-C-H (groupe CH ₃)
1174,6	-C-O
1061,6	-C-O
722,0	-(CH ₂) _n ; =C-H

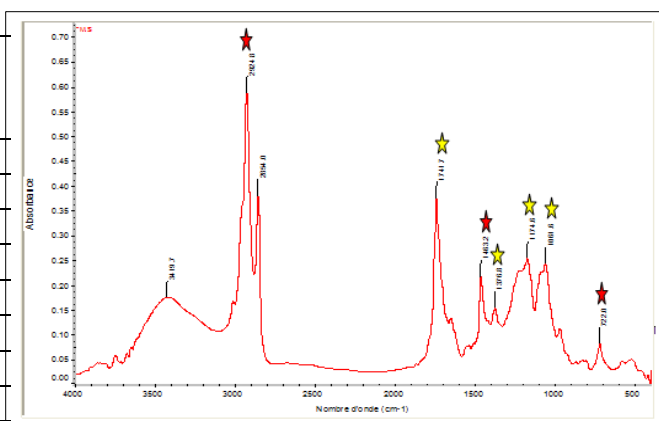


Figure 20 : Spectre de l'analyse par FTIR d'huile de *S. pilchardus* dans la région 4000-500cm⁻¹.

Tableau IV : Les bandes de vibrations du spectre 4

La position approximative de la bande (cm ⁻¹)	fragments
2924,3	-C-H (groupe CH ₂ ;CH ₃)
2853,5	-C-H (groupe CH ₂)
1740,1	-C=O (groupe ester)
1463,5	-C-H (groupe CH ₂)
1377,4	-C-H (groupe CH ₃)
1176,6	-C-O
1058,0	-C-O
722,3	-(CH ₂) _n ; =C-H

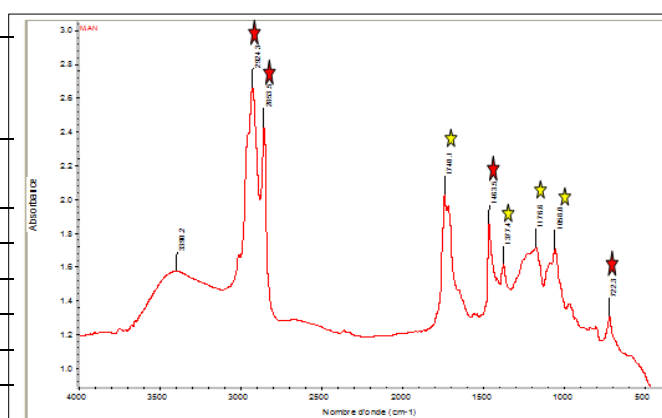


Figure 21 : Spectre de l'analyse par FTIR d'huile de *E. encrasicolus* dans la région 4000-500cm⁻¹.

III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

Tableau V : Les bandes de vibrations du spectre 5

La position approximative de la bande (cm ⁻¹)	fragments
2925,1	-C-H (groupe CH ₂)
2854,6	-C-H (groupe CH ₂)
1741,3	-C=O (groupe ester)
1462,5	-C-H (groupe CH ₂)
1376,4	-C-H (groupe CH ₃)
1233,1	-C-O
1088,0	-C-O
990,2	=C-H (Trans)
722,3	-(CH ₂) _n ; =C-H (cis)

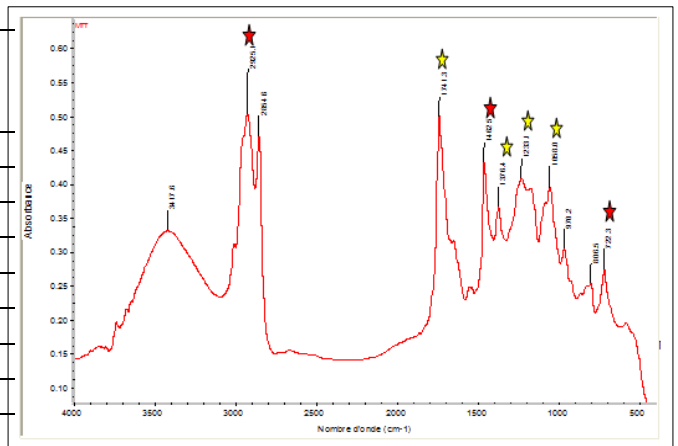


Figure 22 : Spectre de l'analyse par FTIR d'huile de *T. trachurus* dans la région 4000-500cm⁻¹.

Tableau VI : Les bandes de vibrations du spectre 6

La position approximative de la bande (cm ⁻¹)	fragments
3013,9	-C-H (groupe CH ₂)
2854,3	-C-H (groupe CH ₂)
1743,3	-C=O (groupe ester)
1461,9	-C-H (groupe CH ₂)
1377,5	-C-H (groupe CH ₃)
1167,1	-C-O
1099,1	-C-O
722,2	-(CH ₂) _n ; =C-H

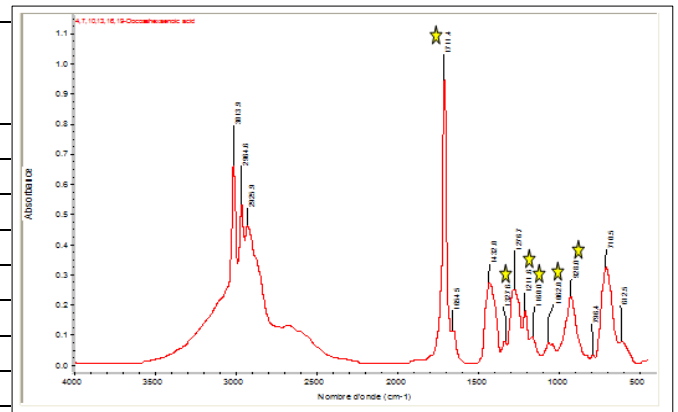


Figure 23 : Spectre de l'analyse par FTIR d'acide gras DHA pur dans la région 4000-500cm⁻¹.

Tableau VII : Les bandes de vibrations du spectre 7

La position approximative de la bande (cm ⁻¹)	fragments
2925,2	-C-H (groupe CH ₂)
2854,3	-C-H (groupe CH ₂)
1743,3	-C=O (groupe ester)
1461,9	-C-H (groupe CH ₂)
1377,5	-C-H (groupe CH ₃)
1167,1	-C-O
1099,1	-C-O
722,2	-(CH ₂) _n ; =C-H

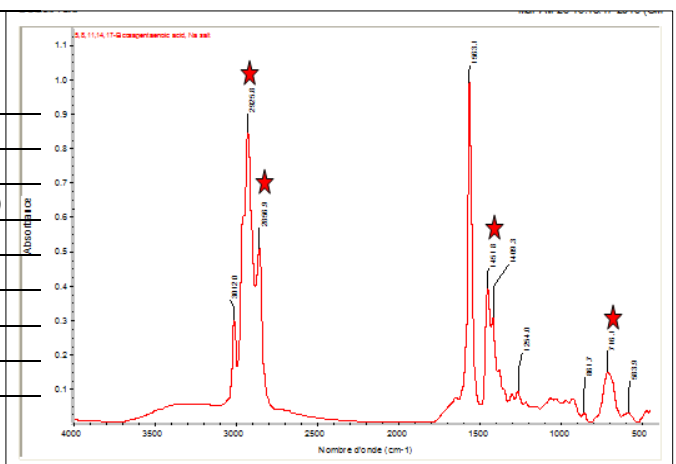


Figure 24 : Spectre de l'analyse par FTIR d'acide gras EPA pur dans la région 4000-500cm⁻¹.

III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

Par comparaison des pics liés aux spectres des cinq espèces de poissons étudiées (Figures 18, 19, 20, 21, 22) à ceux des acides gras oméga 3 pur ; la DHA et l'EPA (Figures 23 et 24) issuent de l'analyse Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR), on remarque l'apparition des bandes communes qui persistent dans tout les spectres des échantillons analysés, on note :

- ✓ La vibration [2921,0-2925,5 cm^{-1}] correspond à la liaison chimique –C-H de groupe CH_2 ;
- ✓ La vibration [2852,2-2854,6 cm^{-1}] correspond à la liaison chimique –C-H de groupe CH_2 et CH_3 ;
- ✓ La vibration [1740,1-1743,33 cm^{-1}] correspond à la fonction ester $\text{C}=\text{O}$;
- ✓ La vibration [1376,0-1377,6 cm^{-1}] correspond à la liaison chimique –C-H de groupe CH_3 .

Ces résultats concordent avec ceux rapportés par Zhang (2009), lors de l'analyse et la caractérisation des huiles synthétiques de quelques produits de consommation en les comparant avec ceux des huiles de poissons oméga 3 (EPA et DHA) par la FTIR.

Kramer & *al.* (2013) ont démontré l'existence des spectres des deux acides gras polyinsaturés : EPA et DHA en utilisant la FTIR, avec l'apparition des mêmes bandes, on cite :

- ✓ Les vibrations 2924 cm^{-1} et 2853 cm^{-1} correspondent aux groupements methyl – CH_2 ; CH_3 respectivement ;
- ✓ La vibration 1750 cm^{-1} correspond à la liaison $\text{C}=\text{O}$;
- ✓ La vibration 1375 cm^{-1} et 1461 cm^{-1} présentent la déformation des groupes CH_2 et CH_3 ;
- ✓ La vibration [1250 cm^{-1} – 1150 cm^{-1}] représente la liaison –C-O ;
- ✓ La vibration de 975 cm^{-1} pour les doubles liaisons entre les molécules.

Ces différentes constatations sont similaires à celles notées dans ce présent travail.

Lors d'une étude sur la différence entre les graisses de grenouille, des huiles végétales et marines par la FTIR, il a été révélé l'existence de :

- ✓ La bande 2921,0 cm^{-1} (liaison – CH_3) ;
- ✓ La bande 2852,2 cm^{-1} (liaison CH_2 ; CH_3) ;
- ✓ La bande 1742,2 cm^{-1} (liaison $\text{C}=\text{O}$),
- ✓ 1450 cm^{-1} (liaison - CH_2) ;
- ✓ 719 cm^{-1} (liaison –(CH_2) $_n$; =C-H cis).

Ces vibrations sont caractéristiques du spectre d'EPA et la DHA (Ali & *al.*, 2015). Ce qui concordent également avec les résultats déduits dans cette présente études.

III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

2.3. Analyse par la micro fluorescence au rayon X (μ XRF)

Des mesures par diffraction par des rayons X ont été réalisées sur des échantillons provenant des poudres de muscles de cinq espèces de poissons ; et les résultats sont :

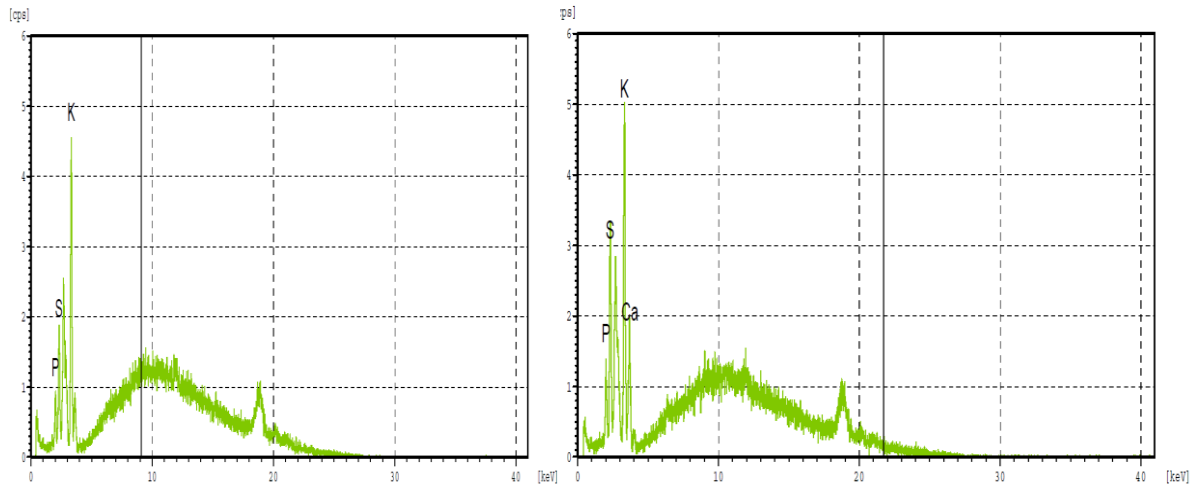


Figure 25 : Spectre de micro fluorescence au rayon X caractéristique de la poudre de *S. aurita*.

Le spectrogramme (Figure 25) révèle l'existence des pics qui correspondent aux éléments : phosphore (P), soufre (S), potassium (K), et calcium (Ca) avec des pourcentages de 53,72% et 22,45% respectivement (Annexe 3, Tableau I). Pour la même espèce à Ghana, Obodai & al. (2009) ont montré que l'élément le plus abondant était le calcium (Ca) suivi par le phosphore (P), ce qui concorde avec nos résultats.

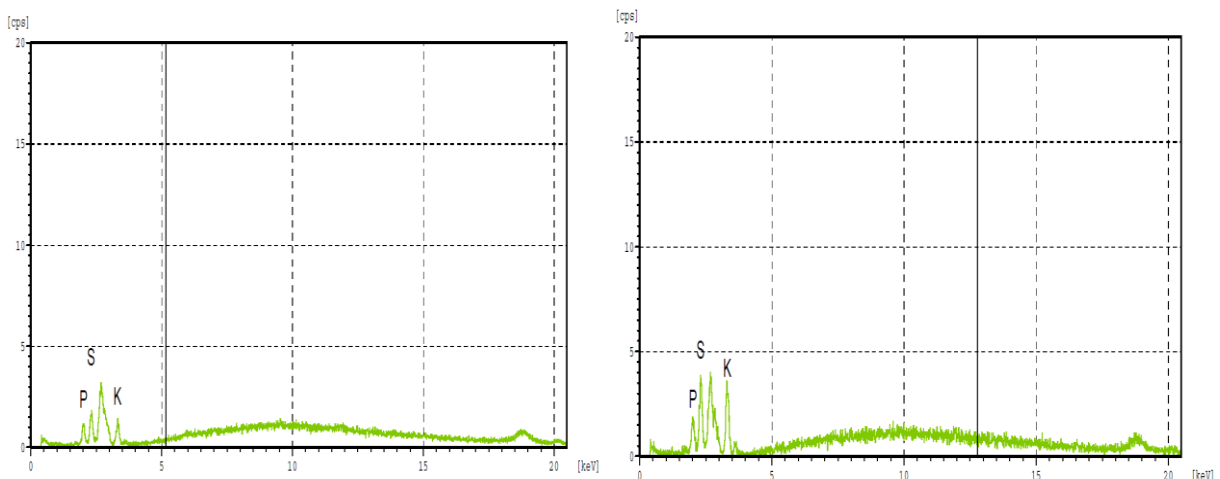


Figure 26 : Spectre de micro fluorescence au rayon X caractéristique de la poudre de *S. pilchardus*.

III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

Le spectrogramme (Figure 26) révèle l'existence des pics qui correspondent aux éléments : phosphores (P), soufre (S) et potassium (K) avec des pourcentages de 18,09% ; 26,59% et 55,32% respectivement (Annexe 3, Tableau II).

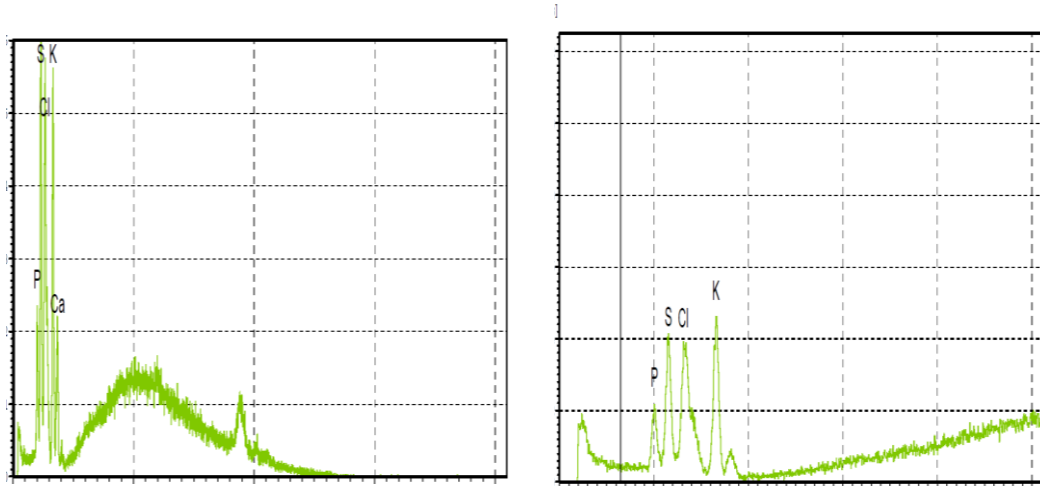


Figure 27 : Spectre de micro florescence au rayon X caractéristique de la poudre d'*E. encrasicolus*.

Le spectrogramme (Figure 27) révèle l'existence des pics qui correspondent aux éléments : phosphores (P), soufre (S), clore (Cl), potassium (K), et calcium (Ca) avec des pourcentages de 9,19% ; 16,18% ; 15,54% ; 40,62% et 18,46% respectivement (Annexe 3, Tableau III). La même espèce a été étudiée en Turquie par Uran et Gokoglu (2014), et il a été révélé l'existence des éléments : K (25,90%), Ca (25,30%) et P (30,50%). Il est à noter que ces résultats sont différents de ceux signalés dans cette étude.

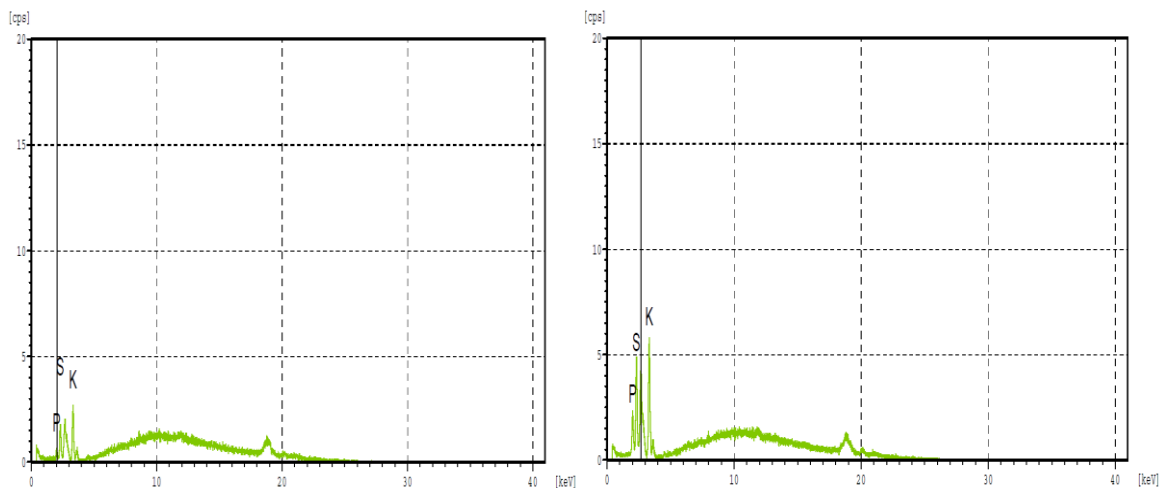


Figure 28 : Spectre de micro florescence au rayon X caractéristique de la poudre de *T. trachurus*.

Le spectrogramme (Figure 28) révèle l'existence des pics qui correspondent aux éléments : phosphores (P), soufre (S), et le potassium (K), avec des pourcentages de 9,31% ;

III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

- ✓ G1 : Folch PI /Soxhlet avec une distance minimale de 5,2 (AE) ;
- ✓ G2 : Folch PS /Coproduit avec une distance de 5,6 AE ;
- ✓ A ces deux groupes s'attache l'extrait du muscle obtenu par la macération.

NB : La matrice de distance est citée en annexe 2, tableau II.

D'après l'histogramme de la figure 31, il s'observe globalement une richesse en polyphénols du côté des coproduits pour les cinq espèces étudiées.

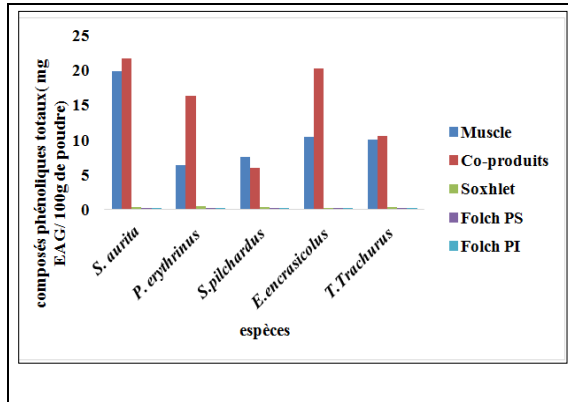


Figure 31 : Histogramme illustrant les teneurs en polyphénols en fonction des cinq espèces de poissons et des types d'extraits.

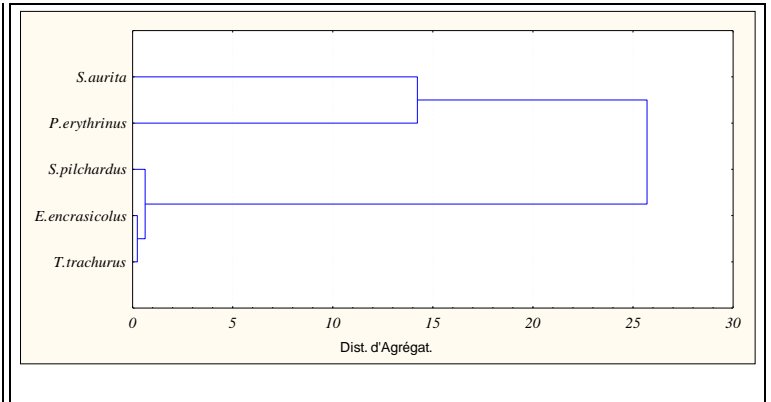


Figure 32 : Dendrogramme réalisé par une CAH illustrant la relation entre les cinq espèces de poissons en se basant sur leurs teneurs en polyphénols.

L'application de la CAH (Figure 32) a permis d'établir un regroupement des espèces comme suit :

- ✓ G1 : *T. trachurus* / *E. encrasicolus* avec une distance minimale de 0,2 (AE), à ce groupe s'attache *S. pilchardus* comme élément intermédiaire.
- ✓ G2 : *P. erythrinus* / *S. aurita* avec une distance de 14,2 AE.

NB : La matrice de distance est citée en annexe 2, tableau III.

Lors de l'application du test de significativité des corrélations de Spearman entre les cinq espèces, il a été révélé uniquement une seule corrélation significative ($p < 0,05$) entre *T. trachurus* et *E. encrasicolus*. Cela témoigne d'une différence dans les taux des polyphénols entre le reste des espèces.

Par contre, l'étude des corrélations entre les différents extraits a montré :

- ✓ Des corrélations très hautement significatives ($p < 0,001$) ont été données entre : (1) Le Muscle et Folch PI ; (2) Les Coproduits et Folch PS.
- ✓ Des corrélations hautement significatives ($p < 0,01$) ont été établies entre : (1) Soxhlet et Folch PI ; (2) Soxhlet et le Muscle.
- ✓ Des corrélations significatives ($p < 0,05$) ont été enregistrées entre : (1) Le Muscle et les Coproduits ; (2) Le Muscle et Folch PS ; (3) Folch PI et les Coproduits ; (4) Folch PI et Folch PS.

III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

NB : La matrice de corrélation est citée en annexe 3, tableau I.

Il est à signaler que peu de données sont disponibles sur la composition en composés phénoliques chez les poissons.

Toutefois, les résultats de Sérot et Laffichier (2003) ont montré l'existence de dix composés phénoliques dans le filet de harengs, il s'agit du : phénol ; p-crésol ; O-crésol ; gaïacol ; 4-methyl gaïacol ; 4-methyl gaicol ; syringol ; eugénol ; gaïacol-4-propyl et l'isoeugénol.

En revanche, lors d'une étude sur la composition lipidique et l'activité antioxydant des huiles de foie de 3 espèces de ray en Tunisie, Sellami & al. (2014) ont signalé la présence des caroténoïdes et des composés phénoliques dans les extraits étudiés, et qui sont connus comme des antioxydants naturels efficaces pour la protection d'huile contre l'oxydation. Ils ont rapporté également que les espèces de poissons rayons sont incapables de synthétiser ces molécules, et leur présence peut être expliquée par la nature de leur régime alimentaire, qui est constitué essentiellement par des crevettes et d'autres petits crustacés qui sont riches en ces composés.

Cette présence des polyphénols dans les poissons pourrait être due encore aux diatomées, qui sont connues par leurs richesses en ces molécules, et qui s'attachent souvent à la peau des poissons (Nappo, 1999).

3.2. Dosage des flavonoïdes

L'analyse de l'histogramme en figure 33, a montré que les coproduits ont une teneur élevée en flavonoïdes pour les cinq espèces suivi par le muscle. Par contre, les trois autres extraits contiennent des quantités faibles et presque négligeables.

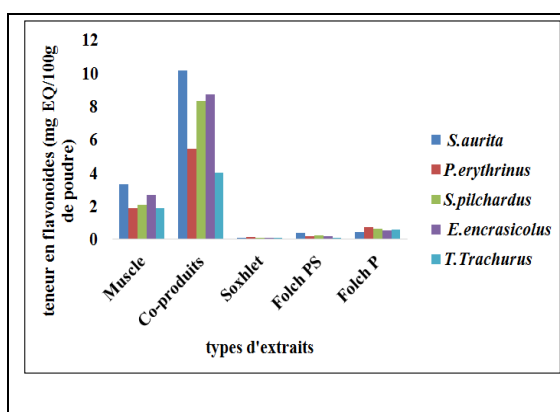


Figure 33 : Histogramme illustrant les teneurs en flavonoïdes en fonction des types d'extraits et des cinq espèces de poissons.

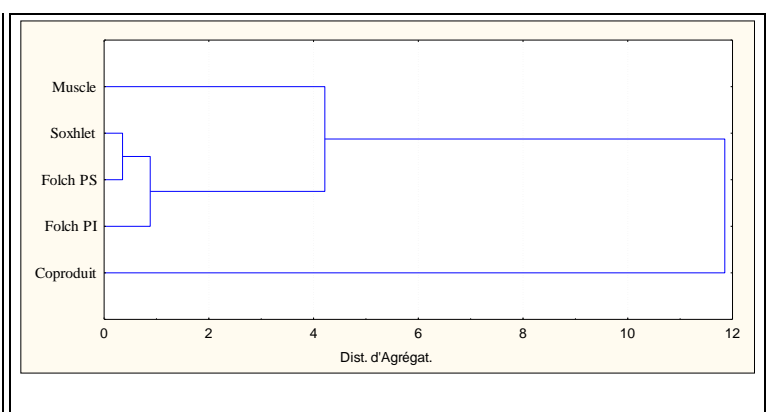


Figure 34 : Dendrogramme réalisé par une CAH illustrant la relation entre les types d'extraits en se basant sur les teneurs en flavonoïdes.

III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

L'application de la CAH (Figure 34) a permis d'établir un regroupement des extraits : Soxhlet /Folch PS avec une distance minimale de 0,35 AE, à ce groupe s'attache Folch PI, puis le muscle, suivi en dernier par les coproduits.

NB : La matrice de distance est citée en annexe 2, tableau IV.

L'histogramme de la figure 35 montre que la macération des coproduits a noté des taux très élevés en flavonoïdes, suivi par la macération des muscles et cela pour toutes les espèces. Par contre, les autres méthodes d'extraction : Soxhlet, Folch PI et Folch PS ont donné des teneurs très faibles voir négligeables pour également toutes les espèces.

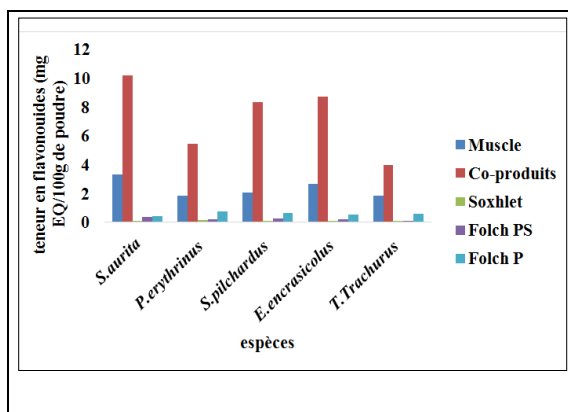


Figure 35 : Histogramme illustrant les teneurs en flavonoïdes en fonction des cinq espèces de poissons et des types d'extraits.

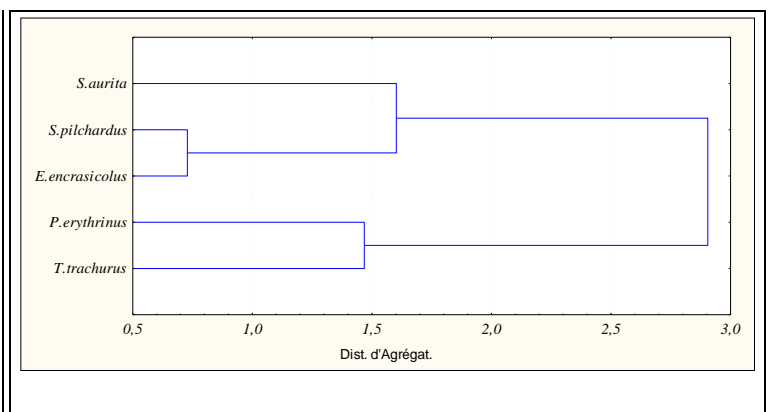


Figure 36 : Dendrogramme réalisé par une CAH illustrant la relation entre les cinq espèces de poissons en se basant sur leurs teneurs en flavonoïdes.

L'application de la CAH (Figure 36) a permis d'établir un regroupement suivant :

- ✓ G1 : *S. pilchardus* / *E. encrasicolus* avec une distance minimale de 0,73 AE, à ce groupe s'attache *S. aurita*.
- ✓ G2 : *T. trachurus* / *P. erythrinus* avec une distance de 1,47 AE.

NB : La matrice de distance est citée en annexe 2, tableau V.

L'application du test de corrélation de Spearman entre les différents types d'extraits n'a révélé aucune relation significative ($p < 0,05$). Or que, un même test a été appliqué pour les cinq espèces et a donné :

- ✓ Des corrélations très hautement significatives ($p < 0,001$) entre : (1) *S. aurita* et *P.erythrinus* ; (2) *S. aurita* et *S. pilchardus* ; (3) *S. aurita* et *E. encrasicolus* ; (4) *P. erythrinus* et *S. pilchardus* ; (5) *P. erythrinus* et *E. encrasicolus*.
- ✓ Des corrélations hautement significatives ($p < 0,01$) entre : (1) *P. erythrinus*, *S. pilchardus* ; (2) *E. encrasicolus* et *T. trachurus*.

NB : La matrice de corrélation est citée en annexe 3, tableau II.

III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

Aucune étude n'a été menée sur le dosage des flavonoïdes dans la chair et les coproduits des poissons. Toutes les études sont réunies sur la présence exclusive de ces métabolites secondaires chez les végétaux (les seuls espèces autotrophes).

En outre, on peut expliquer nos résultats par rapport à l'existence de certains acides aminés de structure chimique similaire à celle des flavonoïdes qui peuvent absorber à la même longueur d'onde. Cette situation peut être liée probablement au régime alimentaire des poissons qui est constitué des : détritiques, bactéries, vers, mollusques, zooplanctons, diatomées, algues et phytoplanctons, ces derniers, sont dotés d'une teneur hautement élevée en flavonoïdes. Ces hypothèses sont appuyées par les résultats de plusieurs travaux tels que :

- ✓ Evans et Pepin, (1989) qui ont montré que le *posidonia oceanica*, un plancton consommable par certaines espèces de poissons, contient une forte teneur en composés phénoliques surtout les flavonoïdes.
- ✓ Houta & al. (2012) signalent que *Crithmum maritimum* cette espèce ; plante halophyte qui appartient à la famille des Apiaceae pousse tout au long des côtes de la mer méditerranéenne et de l'océan atlantique ; est riche surtout en flavonoïdes.
- ✓ Djénéba, (2013) a démontré que les macrophytes aquatiques, qui sont une source d'alimentation pour certaines espèces de poissons, sont riches en métabolites secondaires et les flavonoïdes font partie.
- ✓ Ainsi, l'étude des activités antioxydants et anti bactériennes de l'extrait brut d'une algue *corallina officinalis*, récoltée sur la côte ouest algérienne, a révélé une teneur en flavonoïdes totaux des extraits étudiés de l'ordre de 0.844 ± 0.0036 mg EC/g de masse sèche (Naghraoui, 2014).

3.3. Dosage des protéines

3.3.1. La méthode de Lowry

L'analyse de l'histogramme en figure 37, révèle que le meilleur rendement en protéines est donné par la macération des muscles et les coproduits pour toutes les espèces. Cependant, *P. erythrinus* exprime une quantité élevée en protéines par rapport aux restes des espèces (Figure 38) et cela quel que soit le types d'extraits.

L'application de la CAH (Figure 39) a permis d'établir le regroupement des extraits suivant :

- ✓ G1 : Folch PI / Folch PS avec une distance minimale de 13 AE.
- ✓ G2 : Muscle/Coproduit avec une distance de 56 AE.

NB : La matrice de distance est citée en annexe 2, tableau VI.

III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

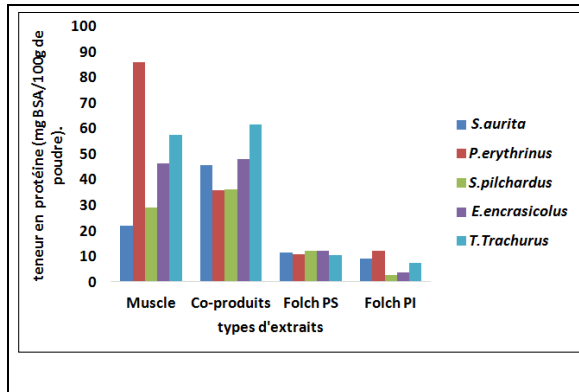


Figure 37 : Histogramme illustrant les teneurs en protéines dosées selon Lowry en fonction des types d'extraits et des cinq espèces de poissons.

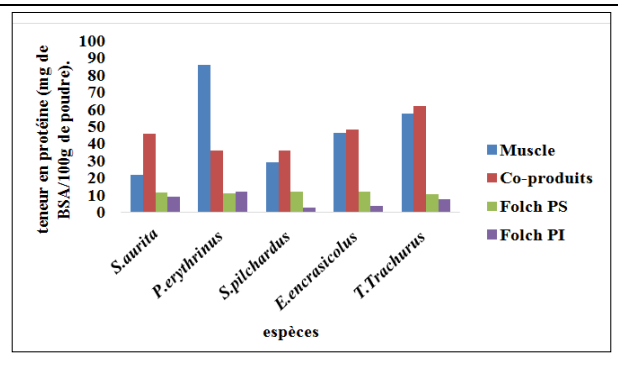


Figure 38 : Histogramme illustrant les teneurs en protéines dosées selon Lowry en fonction des cinq espèces de poissons et des types d'extraits.

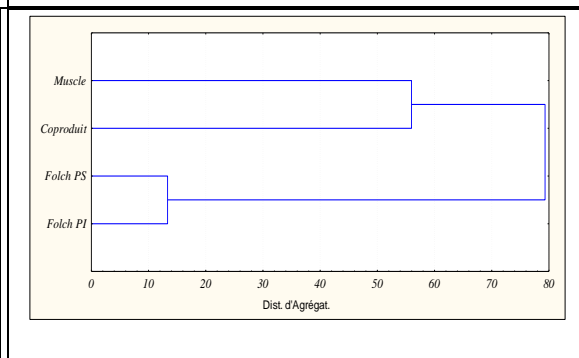


Figure 39 : Dendrogramme réalisé par une CAH illustrant la relation entre les types d'extraits en se basant sur leurs teneurs en protéines dosées selon Lowry.

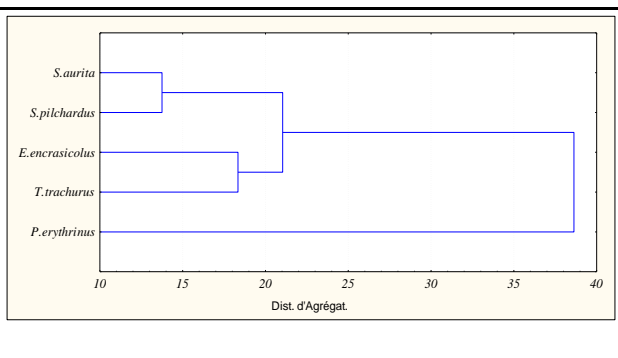


Figure 40 : Dendrogramme réalisé par une CAH illustrant la relation entre les cinq espèces de poissons en se basant sur leurs teneurs en protéines dosées selon Lowry.

L'application de la CAH (Figure 40) a permis d'établir un regroupement des espèces comme suit :

- ✓ G1 : *S. aurita* / *S. pilchardus* avec une distance minimale 13,8 AE.
- ✓ G2 : *T. trachurus* / *E. encrasicolus* avec une distance de 18,3 AE.
- ✓ A ces deux groupes s'attache l'espèce *P. erythrinus*.

NB : La matrice de distance est citée en annexe 2, tableau VII.

Lors de l'application du test de significativité des corrélations, il n'a pas été déduit aucune relation significative ($p < 0,05$) entre les différents extraits. Par ailleurs, la comparaison entre les espèces a révélé une corrélation hautement significative ($p < 0,01$), entre *E. encrasicolus* et *T. trachurus*, et une corrélation significative ($p < 0,05$) entre l'espèce *S. pilchardus* avec *E. encrasicolus* et *T. trachurus*.

NB : La matrice de corrélation est citée en annexe 3, tableau III.

III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

3.3.2. La méthode de Bradford

On remarque à partir de l’histogramme illustré en figure 41, que la macération des coproduits a donné un meilleur rendement en protéine, suivi par la macération des muscles et cela pour toutes les espèces, par contre, les extraits : Folch PS et Folch PI ont donné les teneurs les plus faibles.

L’observation de l’histogramme en figure 42, montre que la macération des coproduits donne les teneurs les plus élevées en protéines totales quelque que soit l’espèce. Il est à retenir que la valeur la plus élevée était en faveur d’*E. encrasicolus*.

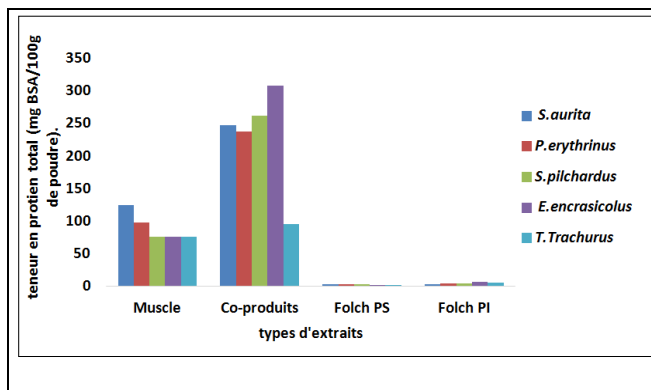


Figure 41 : Histogramme illustrant les teneurs en protéines dosées selon Bradford en fonction des types d’extraits et des cinq espèces de poissons.

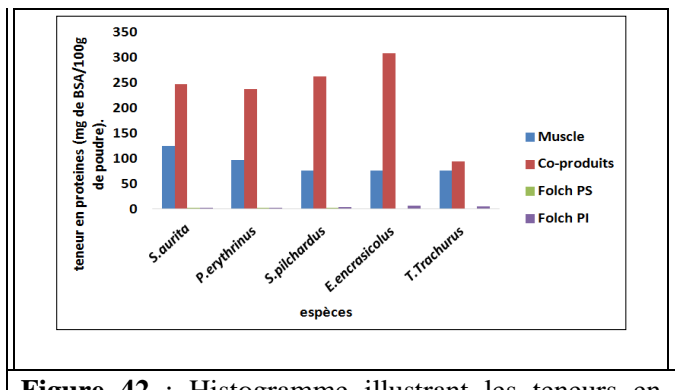


Figure 42 : Histogramme illustrant les teneurs en protéines dosées selon Bradford en fonction des cinq espèces de poissons et des types d’extraits.

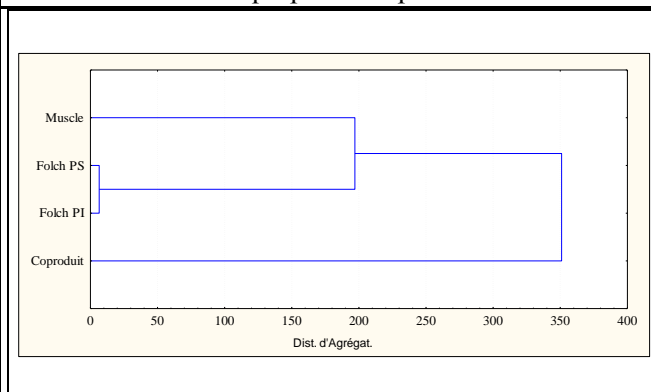


Figure 43 : Dendrogramme réalisé par une CAH illustrant la relation entre les types d’extraits en se basant sur leurs teneurs en protéines dosées selon Bradford.

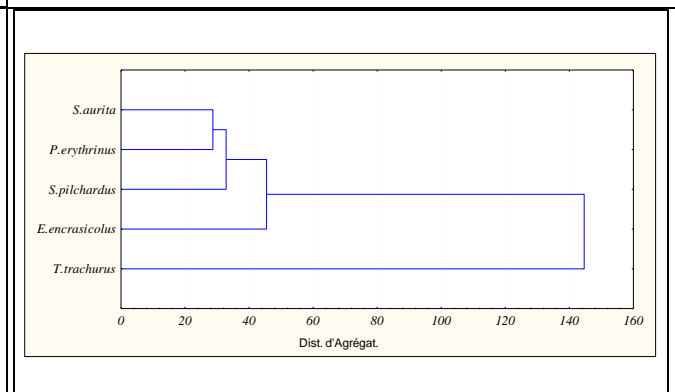


Figure 44 : Dendrogramme réalisé par une CAH illustrant la relation entre les cinq espèces de poissons en se basant sur leurs teneurs en protéines dosées selon Bradford.

L’application de la CAH (Figure 43) a permis d’établir un regroupement des extraits ci-après : Folch SP/Folch PI avec une distance minimale de 7 AE, à ce groupe s’attache le muscle, suivi par les coproduits en dernier.

NB : La matrice de distance est citée en annexe 2, tableau VIII.

III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

La CAH des espèces (Figure 44) a un premier rapprochement entre *S. aurita* / *P. erythrinus* avec une distance minimale de 29 AE, à ce groupe s'attache *S. pilchardus*, suivi par *E. encrasicolus* et *T. trachurus* en dernier.

NB : La matrice de distance est citée en annexe 2, tableau IX.

L'application du test de significativité des corrélations de Spearman entre les différents types d'extraits n'a révélé aucune similitude ($p < 0,05$). En revanche, l'application du même test pour les cinq espèces a donné :

- ✓ Des corrélations très hautement significatives ($p < 0,001$) entre : **(1)** *S. pilchardus* et *P. erythrinus* ; **(2)** *S. pilchardus* et *T. trachurus*.
- ✓ Des corrélations hautement significatives ($p < 0,01$) entre : **(1)** *S. aurita* et *E. encrasicolus* ; **(2)** *S. aurita* et *S. pilchardus* ; **(3)** *S. aurita* et *T. trachurus*.
- ✓ Une corrélation significative ($p < 0,05$) entre *P. erythrinus* et *E. encrasicolus*.

NB : La matrice de corrélation est citée en annexe 3, tableau IV.

3.3.3. Comparaison des deux méthodes : Lowry et Bradford

D'après le cercle de corrélation (Figure 45) on remarque l'existence de deux groupes qui s'opposent par rapport à l'axe des ordonnées ; le premier correspond aux résultats des teneurs en protéines des cinq espèces, dosées par Lowry et le second représente celles dosées par Bradford. Cela renseigne sur la différence nette dans le rendement entre les deux méthodes et cela chez toutes les espèces de poissons étudiées.

Par ailleurs, le cercle de corrélation (Figure 46) révèle l'existence de trois groupes, mais il est important de signaler le chevauchement entre les extraits dosés par Lowry et Bradford, indiquant ainsi une même efficacité du rendement. Cela est noté essentiellement du côté du protocole de Folch, dont leurs extraits ont enregistré les mêmes résultats approximativement entre Lowry et Bradford.

Le dosage des protéines dans le muscle et le coproduit présente un rassemblement selon Lowry or que le dosage selon Bradford montre une dispersion entre ces extraits.

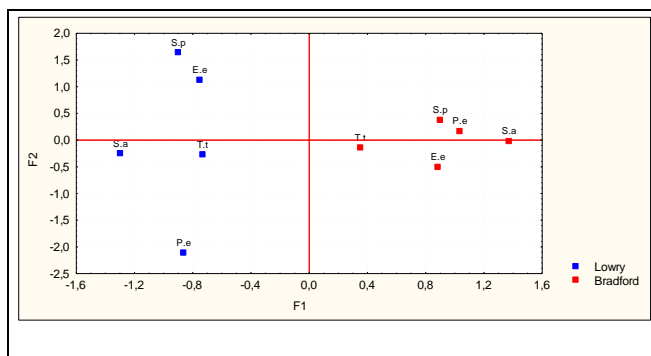


Figure 45 : Cercle de corrélation illustrant la distribution des cinq espèces de poissons en fonction des deux méthodes de dosages des protéines : Lowry et Bradford.

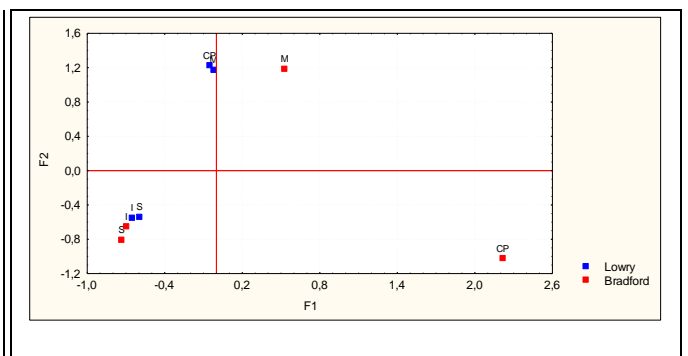


Figure 46 : Cercle de corrélation illustrant la distribution des différents types d'extraits en fonction des deux méthodes de dosages des protéines : Lowry et Bradford.

III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

Ruzin & al. (2004) ont rapporté la présence d'une variation entre les résultats protéiques obtenus par les deux méthodes Lowry et Bradford, et cela par le fait que le réactif de Biorad utilisé dans l'analyse de Bradford a réagi seulement avec des protéines plus de 13KDa en grande partie, tandis que le réactif de Lowry a réagi avec des protéines et peptides de toutes tailles.

Lu Tzong-shi & al. (2010) ont également expliqué la différence dans les résultats ; qu'ils ont obtenu par les deux méthodes de dosage ; par le fait que Bradford est sensible lorsque les teneurs en protéine sont assez faibles, par contre lorsque les quantités sont trop élevées les deux méthodes donnent les mêmes résultats.

Redmile-Gordon & al. (2013) ont trouvé pareillement une variation entre les résultats de dosages des protéines par les deux méthodes, ce qui est due au fait que la méthode de Bradford est la plus sensible en raison de la présence des polyphénols dans l'échantillon à analyser, par contre la méthode de Lowry et la plus précise.

Ces différentes constatations concordent avec les résultats déduits dans ce présent travail.

4 LES ACTIVITES ANTIOXYDANTS ET ANTIBACTERIENNES

4.1. Test de blanchissement de la β -carotène

D'après l'observation des courbes illustrées en figure 47, on déduit que les différents extraits des muscles de tous les poissons ont la même cinétique de régression en fonction du temps. Il est à retenir que l'espèce *E. encrasicolus* possède le pouvoir d'inhibition de la dégradation oxydative de la β -carotène le plus élevé.

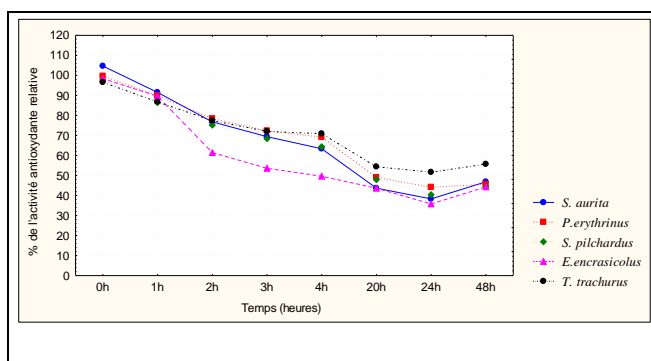


Figure 47 : Courbes des variations du pouvoir d'inhibition de la dégradation oxydative de la β -carotène pour les muscles des cinq espèces de poissons.

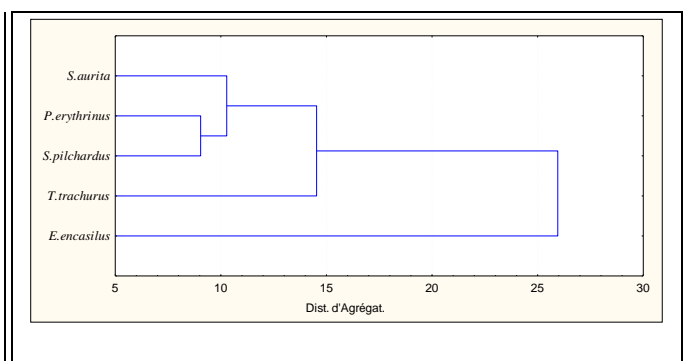


Figure 48 : Dendrogramme réalisé par une CAH illustrant la relation entre les muscles des cinq espèces de poissons en se basant sur leur pouvoir d'inhibition de la dégradation oxydative de la β -carotène.

III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

L'application de la CAH (Figure 48) a permis d'établir un regroupement des espèces ; en fonction de leur similarité dans leur pouvoir inhibiteur de la décoloration de la β -carotène ; comme suit : *P. erythrinus* / *S. pilchardus* avec une distance minimale de 9 AE, à ce groupe s'attache l'espèce *S. aurita*, suivi par *T. trachurus* et *E. encrasicolus* en dernier.

NB : La matrice de distance est citée en annexe 2, tableau X.

Les mêmes constatations que précédemment ont été obtenues lors de l'analyse des courbes illustrées en figure 48, dont une cinétique de régression est marquée pour les différents extraits des coproduits de tous les poissons en fonction du temps. Cette fois-ci par contre, le pouvoir d'inhibition de la dégradation oxydative de la β -carotène le plus élevé, était en faveur de l'espèce *T. trachurus* (Figure 49).

L'application de la CAH (Figure 50) a permis d'établir un regroupement des espèces ; en fonction de leur similarité dans leur pouvoir inhibiteur de la décoloration de la β -carotène ; *P. erythrinus* / *S. pilchardus* avec une distance minimale de 6,8 AE, à ce groupe s'attache l'espèce *E. encrasicolus*, suivi par *S. aurita* et *T. trachurus* en dernier.

NB : La matrice de distance est citée en annexe 2, tableau XI.

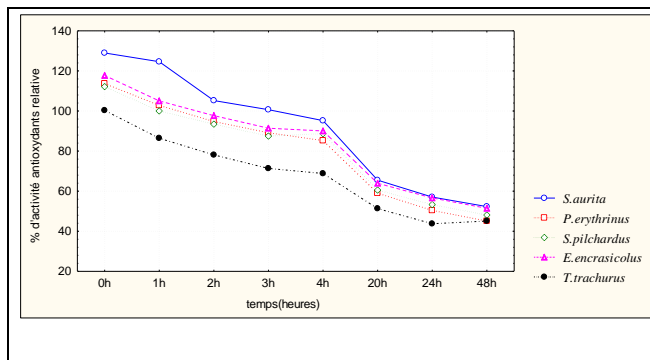


Figure 49 : Courbes des variations du pouvoir d'inhibition de la dégradation oxydative de la β -carotène pour les coproduits des cinq espèces de poissons.

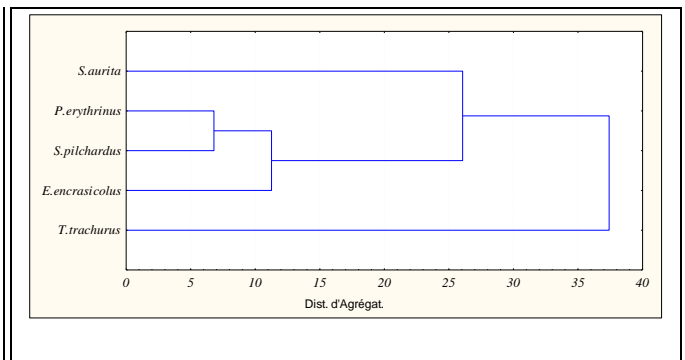


Figure 50 : Dendrogramme réalisé par une CAH illustrant la relation entre les coproduits des cinq espèces de poissons en se basant sur leur pouvoir d'inhibition de la dégradation oxydative de la β -carotène.

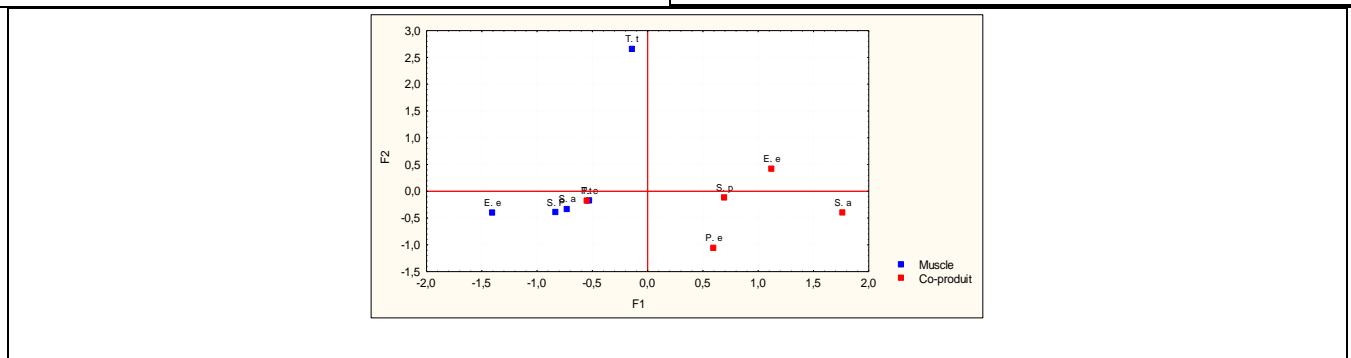


Figure 51 : Cercle de corrélation illustrant la distribution des différentes espèces de poisson en fonction de leurs pouvoirs antioxydant de leur muscle et leurs coproduits.

III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

D'après le cercle de corrélation illustré en figure 51, il en ressort un premier groupe renfermant les coproduits des espèces : *S. aurita* ; *P. erythrinus* ; *S. pilchardus* ; *E. encrasicolus*, alors qu'un deuxième groupe renferme les muscles des espèces *S. aurita* ; *S. pilchardus* ; *E. encrasicolus*, ainsi qu'une superposition entre le muscle de *P. erythrinus* et le coproduit de *T. trachurus*. On remarque par contre l'isolement du muscle de *T. trachurus*.

On conclue que la capacité antioxydants du muscle de l'espèce *P. erythrinus* est la même que celle du coproduit de l'espèce *T. trachurus*.

Le test de significativité pour la comparaison du muscles et les coproduits des espèces de poissons a montré une corrélation très hautement significative entre de l'ordre de 0,93 à 1 ($p < 0,001$). Cela donne raison aux résultats précédents qui prouvent une efficacité similaire dans la capacité d'inhibition de la dégradation oxydative de la β -carotène.

4.2.Effet scavenger du radical DPPH

L'observation de histogramme de la figure 52 montre que :

- ✓ Les extraits obtenus par la macération (coproduits et muscles) ont un pouvoir anti-radicalaire le plus fort que ceux donnés par les extrais de Soxhlet et Folch PS.
- ✓ Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH est élevé dans les coproduits des espèces *S. pilchardus* et *P. erythrinus*, et le muscle de *S. aurita*.

La capacité anti-radicalaire de DPPH diffère entre les espèces, et encore dans la même espèce en fonction de procédé d'extraction utilisé (Figure 53).

- ✓ L'espèce *S. aurita* possède une activité anti-radicalaire importante quel que soit le types d'extraits.
- ✓ Les coproduits de *P. erythrinus* et *S. pilchardus* marquent des pourcentages d'inhibition de radical DPPH les plus élevés.

L'application de la CAH (Figure 54) a permet d'établir un regroupement des différents types d'extraits en fonction de leurs similarité dans leur pouvoir réducteur de radical DPPH. Les groupes sont donnés ainsi :

- ✓ G1 : Soxhlet / Folch PS avec une distance minimale de 9,4 AE.
- ✓ G2 : Muscle / Coproduit avec une distance de 23,8 AE.

NB : La matrice de distance est citée en annexe 2, tableau XII.

L'application de la CAH (Figure 55) a permet d'établir un regroupement des espèces étudié en fonction de leurs similarité dans leur pouvoir inhibiteur de la décoloration de la β -carotène. Les groupes sont donnés ainsi :

III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

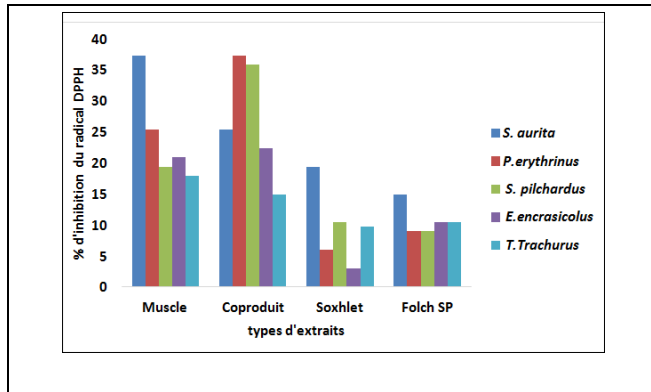


Figure 52 : Histogramme d'activité anti-radicalaire en fonction de différents types d'extraits et des cinq espèces de poissons.

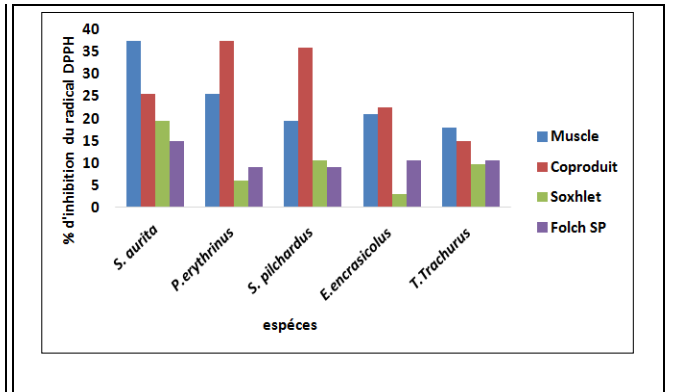


Figure 53 : Histogramme d'activité anti-radicalaire en fonction de cinq espèces de poissons marins de golf de Bejaia et en fonction des différents types d'extraits.

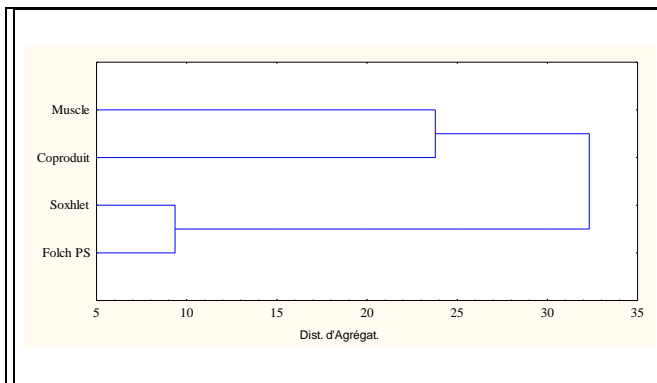


Figure 54 : Dendrogramme établi par une CAH illustrant la relation entre les différents types d'extraits en se basant sur leur pouvoir réducteur de DPPH.

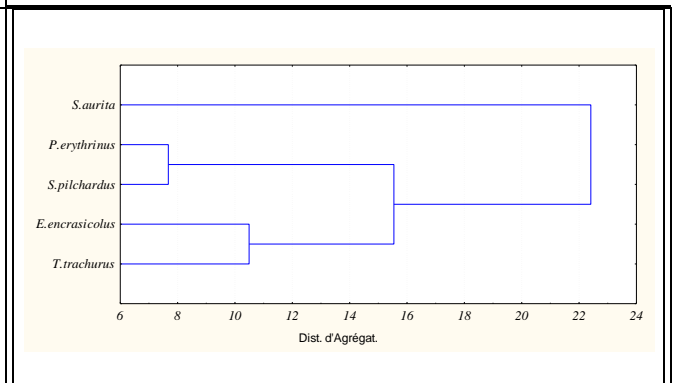


Figure 55 : Dendrogramme établi par une CAH illustrant la relation entre cinq espèces de poissons marins de golf de Bejaia en se basant sur leur pouvoir réducteur de DPPH.

- ✓ G1 : *P. erythrinus*/*S. pilchardus* avec une distance minimale de 7,7 AE.
- ✓ G2 : *E. encrasicolus* / *T. trachurus* avec une distance de 10,5 AE.
- ✓ A ses deux groupes s'attache l'espèce *S. aurita*.

NB : La matrice de distance est citée en annexe 2, tableau XIII.

Lors de l'application du test de significativité des corrélations des différents extraits, il n'a pas été déduit des significativités de relation. Par contre, la comparaison entre les espèces a révélé seulement une corrélation significative ($p < 0,05$), entre *P. erythrinus* et *S. pilchardus* (0.96)

Bougatef & al. (2010) ont démontré, lors de la purification et l'identification des nouveaux peptides antioxydant par l'hydrolyse enzymatique des coproduits de Sardinelle (*Sardinella aurita*), que l'hydrolysate obtenue exhibe une activité antioxydants élevés, ce qui concorde avec les résultats retrouvés dans cette présente étude.

III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

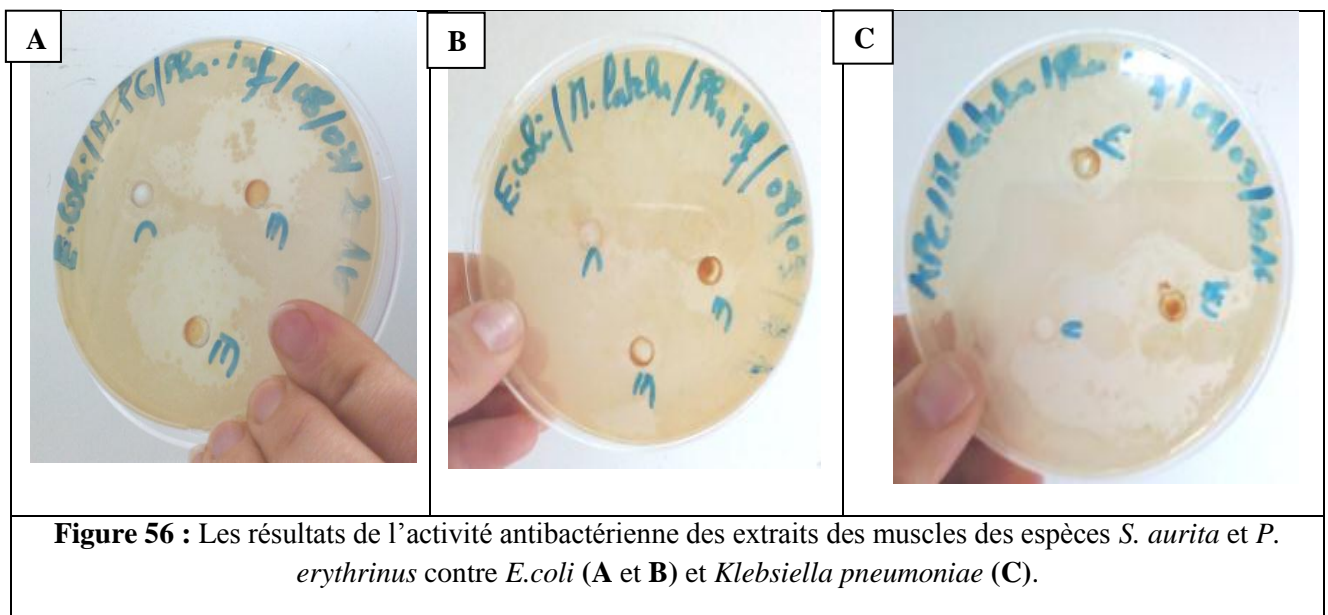
Par ailleurs, Khaled & al. (2014), montrent dans leur travail sur le muscle de la Sardinelle (*Sardinella aurita*), que les hydrolysats protéiques de muscle ont une activité antioxydant avec variables degré contre les systèmes antioxydants *in vitro* (DPPH et la β -carotène).

Ainsi, l'étude de l'activité anti-radicalaire par DPPH des extraits lipidiques du cerveau de la carpe argenté faite par Wang & al. (2013), a montré que les lipides polaires et le α tocophérol a nettoyé les radicaux plus efficacement que les lipides totaux et les lipides neutres.

4.3. Activité antimicrobiennes

Les résultats concernent le test préliminaire de l'activité antibactérienne pour les différents extraits (Soxhlet, Folch Inférieur, Folch Supérieure, Macération des Muscles, Macération des Coproduits) par l'utilisation des disques, et la méthode de diffusion sur gélose pour les souches : *Esherichia coli* (*E. coli*), *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* (KPC), *Staphylococcus aureus* résistant à la Méricilline (SARM), *Enterococcus foecalis*, *Candida albicans*, *Aspergillus Niger*.

Sur 140 boîtes (2 essais) seules six boîtes à partir desquelles on a réussi la lecture et les résultats sont illustrés en figure 56.



On a remarqué d'après les résultats de ce test l'apparition des zones d'inhibitions lors d'ajouts des extraits de la phase inférieur de Folch des deux espèces *S. aurita* et *P. erythrinus* dans les milieux de cultures contre *E. coli*.

Ainsi on a remarqué des zones d'inhibition lors d'ajout de l'extrait de Folch phase inférieure de l'espèce *S. aurita* dans le milieu de culture contre *Klebsiella pneumoniae*.

III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

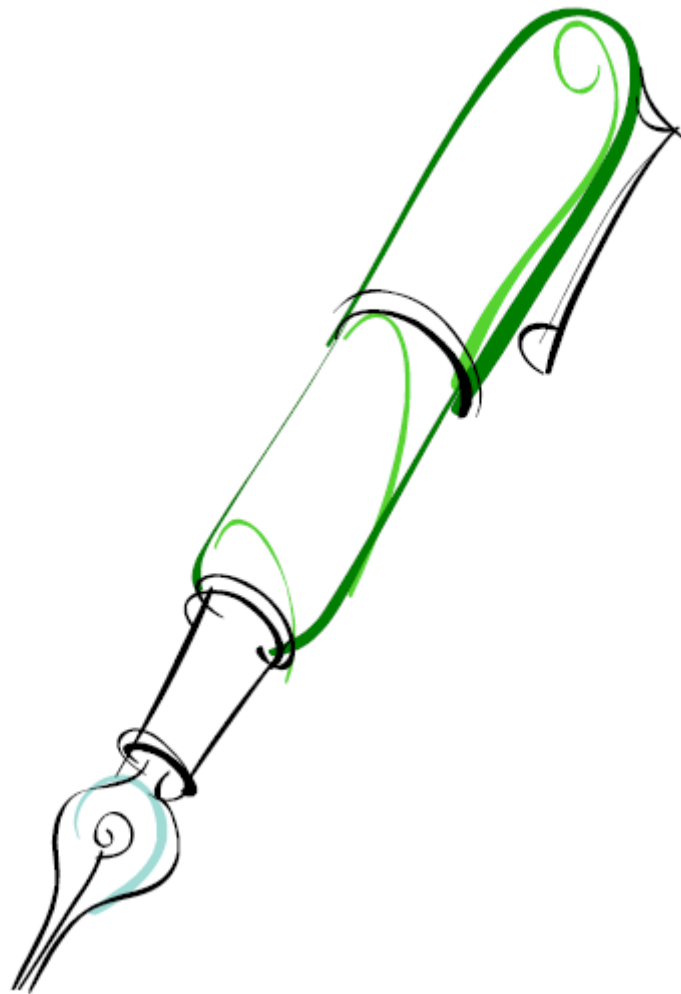
Ces résultats peuvent être justifiés par ceux de Ouattara & al. (1997) qui ont révélé une activité antibactérienne des extraits lipidiques à partir de la basse culture de mer (*Dicentrarchus labrax*) et une espèce de dorade (*Sparus aurata*) contre *Staphylococcus aureus* et *E. coli*, tandis que les extraits lipidiques du loup de mer ont montré une activité antibactérienne contre *Enterococcus faecalis*.

Wang & al. (2013) ont également montré que les lipides de cerveaux des crevettes rouge, bar de mer et la dorade de gilthead ont empêché la croissance de *E. coli*.

Quant à Boselli & al. (2012), ils ont rapporté que l'activité bactéricide des acides gras polyinsaturés augmente avec l'augmentation de degrés des insaturations.

Ainsi rajoutent Kawabori & al. (2013) que l'apparition des zones d'inhibitions peut être expliquée par rapport à la richesse des extraits lipidiques en acides gras qui luttent contre beaucoup de microorganismes en particuliers les acides gras polyinsaturés à longues chaînes, tels que : l'acide oléique, l'acide linoléique et l'acide linoléique ; qui confrontent les bactéries par plusieurs mécanismes d'action, qui comportent principalement la perturbation des membranes bactériennes.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES



CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Cette étude avait comme objectif la mise au point d'une méthode d'extraction d'acides gras et une contribution à leurs caractérisation ainsi que la composition minérale et l'évaluation de quelques activités biologiques.

A la lumière des résultats obtenus, on retient que la méthode d'extraction d'acides gras la plus recommandée est celle de Folch, vu les taux de rendements qui étaient à sa faveur et cela pour les cinq espèces de poissons étudiées. Le taux moyen est évalué à 80,71% pour Folch contre 19,29 enregistré pour l'extraction par Soxhlet.

Ce qui est de la caractérisation des acides gras, par la Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à un Détecteur d'ionisateur de Flamme (CPG/FID), elle a révélé l'existence des différents types d'acides gras, à savoir : l'acide myristique (C14 :0) ; l'acide palmitique (C16 :0) ; l'acide stéarique (C18 :0) et l'acide oléique (C18 :1) pour l'huile des deux espèces de poissons analysées : *S. aurita* et *P. erythrinus*.

Ainsi, l'analyse effectuée par la spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR) a montré la persistance des acides gras polyinsaturés oméga 3 :

L'acide eicosapentaénoïque (EPA) et l'acide docohexaénoïque (DHA) dans la chair des cinq espèces de poissons étudiées. Cette constatation est mise en place suite à la détection des mêmes bandes de vibrations dans les spectres des échantillons analysés et les comparant à ceux des témoins.

L'étude de la composition minérale par la micro Fluorescence au Rayon X (μ XRF) indique que toutes les espèces ont un pourcentage en Potassium (K) relativement élevé, dont la valeur la plus haute était en faveur de l'espèce *T. trachurus* avec un taux de 72,38%. Cet élément est suivi par le soufre (S) et le phosphore (P). Il est à signaler que l'espèce *S. pilchardus* possède une consistance en phosphore (P) en double par apports aux espèces *S. aurita*, *E. encrasicolus* et *T. trachurus*. Par ailleurs, le calcium (Ca) n'a été détecté que chez les deux espèces de poissons *S. aurita* et *E. encrasicolus*. Par contre, seule l'espèce *T. trachurus* qui révèle un pourcentage en chlore (Cl).

Le dosage des polyphénols et les flavonoïdes totaux ont montré que les coproduits des cinq espèces sont les plus riches, voir l'espèce *S. aurita* avec des teneurs les plus élevées : 21,71mg EAG/100g et 10,15mg EQ/100g de poudre, en polyphénols et flavonoïdes respectivement. Toutefois, le dosage des protéines par les deux méthodes Lowry et Bradford a montré en premier une variation dans les rendements, dont ce dernier était en faveur de la méthode de Bradford. Cependant, ce dosage a révélé globalement et avec les deux méthodes que les coproduits et les muscles sont les plus riches en protéines par rapport aux restes d'extraits.

L'évaluation de l'activité antioxydants et anti-radicalaire par le test de blanchissement de la β -carotène et le radical DPPH, ont montré que les fractions musculaires et celles des coproduits suivent la même cinétique d'inhibition dans la dégradation oxydative de la β -carotène. Il est à retenir que l'espèce *T. trachurus* possède un intérêt major du fait que ses

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

coproduits ont l'activité antioxydant la plus élevée (45,14%) et c'est son muscle qui révèle le pouvoir réducteur le plus important (17,91%).

L'essai préliminaire de l'activité antimicrobienne révèle un effet bactéricide des extraits lipidiques de *S. aurita* et *P. erythrinus* contre *Esherichia coli* et *klebsiella pneumoniae*.

Les résultats issus de cette initiative s'examinent autant qu'un pas de départ et constitue une ouverture d'une piste de recherche très pertinente qui ne pourrait qu'être encouragée, et de pousser les études de part leurs diversité en développant les aspects dans le sens :

- ✓ D'une optimisation de d'autres paramètres influençant l'extraction des matières grasses par le protocole de Folch ;
- ✓ D'une identification des acides gras en partant vers l'utilisation des méthodes plus performantes telles que la Chromatographie Gazeuse couplée à un Spectrophotométrie de Masse (CG/MS) ou la Chromatographie Gazeuse couplée à un double Spectrophotométrie de Masse (CG/ MS/ MS) ;
- ✓ D'une purification des minéraux à partir de la chair et les coproduits de poissons pour l'utilisation dans le domaine pharmaceutique contre les insuffisances minérales ;
- ✓ D'une incorporation des deux acides gras polyinsaturés omégas 3 : l'EPA et la DHA dans les aliments quotidiens voire les huiles et les margarines ;
- ✓ D'une valorisation des peptides de poissons comme molécules bioactives dans le domaine industriel (alimentaires et pharmaceutiques).
- ✓ D'utilisation des techniques chromatographiques comme la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) ou la chromatographie gazeuse couplée avec un spectraux de masse voire même l'RMN pour confirmer ou affirmer l'existence des métabolites secondaires tels que les flavonoïdes.

REFERECES BIBLIOGRAPHIQUES

- Achionye-Nzeh, C. G. (2011). Reproductive strategies of the Cichlids in a small reservoir in Ilorin, Nigeria. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 5(4), 1688-1693.
- Ali, M. E., Nina Naquiah, A. N., Mustafa, S., & Hamid, S. B. A. (2015). Differentiation of frog fats from vegetable and marine oils by Fourier Transform Infrared Spectroscopy and chemometric analysis. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, 7(1), 1-8.
- Antoine, L., & Larnaud, P. (2003). Prospective sectorielle-Pêche et transformation des produits.
- Bacsik, Z., Mink, J., & Keresztury, G. (2004). FTIR spectroscopy of the atmosphere. I. Principles and methods. *Applied Spectroscopy Reviews*, 39(3), 295-363.
- Bajpai, P., & Bajpai, P. K. (1993). Eicosapentaenoic acid (EPA) production from microorganisms: a review. *Journal of biotechnology*, 30(2), 161-183.
- Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M. & Pinkas, M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-forschung*, 46(11), 1086-1089.
- Banerjee, I., Saha, S., & Dutta, J. (1992). Comparison of the effects of dietary fish oils with different n-3 polyunsaturated fatty acid compositions on plasma and liver lipids in rats. *Lipids*, 27(6), 425-428.
- Bartosz, G. (2003). Total antioxidant capacity. *Advances in clinical chemistry*, 37, 219-292.
- Beddih, M. L. A., El Cafsi, M., Marzouk, B., Zarrouk, K., & Romdhane, M. S. (2004). Etude comparative des lipides de la boutargue du mullet jaune (*Mugil cephalus*, Linné 1758) de l'Océan Atlantique : Nouakchott (Mauritanie) et de la Mer Méditerranéenne : Tunis (Tunisie). *Bull. Inst. Nat. Scien. Tech. Mer de Salammbô*, 31, 69-74.
- Benbrook, C. M. (2005). Elevating antioxidant levels in food through organic farming and food processing. *The Organic Center, Foster, RI*, 81.
- Bhattacharya, A., Ghosal, S., & Bhattacharya, S. K. (2006). Effect of fish oil on offensive and defensive factors in gastric ulceration in rats. *Prostaglandins, leukotrienes and essential fatty acids*, 74(2), 109-116.
- Boizot, N., & Charpentier, J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'INRA, Numéro spécial 2006 : Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques*, 79-82.
- Bordenave, S., Fruitier, I., Ballandier, I., Sannier, F., Gildberg, A., Batista, I., & Piot, J. M. (2002). HPLC preparation of fish waste hydrolysate fractions. Effect on guinea pig ileum and ACE activity. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 32(1), 65-77.
- Boselli, E., Pacetti, D., Lucci, P., & Frega, N. G. (2012). Characterization of phospholipid molecular species in the edible parts of bony fish and shellfish. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(12), 3234-3245.

REFERECES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bougandoura, N. (2011). Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales *Saturejacalaminthassnepta* (nabta) et *Ajugaiva* L. (chendgoura) de l'ouest d'Algérie.
- Bougatef, A., Nedjar-Arroume, N., Manni, L., Ravallec, R., Barkia, A., Guillochon, D., & Nasri, M. (2010). Purification and identification of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of sardinelle (*Sardinellaaurita*) by-products proteins. *Food chemistry*, 118(3), 559-565.
- Bourre, J. M. (2005). Dietary omega-3 fatty acids and psychiatry: mood, behaviour, stress, depression, dementia and aging. *Age and Nutrition*, 16(2), 70.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Bragadóttir, M. (2001). *Endogenous antioxidants in fish* (Doctoral dissertation, University of Iceland).
- Brouwer, I. A., Geelen, A., & Katan, M. B. (2006). n-3 Fatty acids, cardiac arrhythmia and fatal coronary heart disease. *Progress in lipid research*, 45(4), 357-367.
- Calder, P. C. (1998). Immunoregulatory and anti-inflammatory effects of n-3 polyunsaturated fatty acids. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 31(4), 467-490.
- Calvert, A. H. (2005). Fishing for new drugs. *Journal of clinical oncology*, 23(31), 7780-7782.
- Cattaneo, D., Dell'Orto, V., Varisco, G., Agazzi, A., & Savoini, G. (2006). Enrichment in n-3 fatty acids of goat's colostrum and milk by maternal fish oil supplementation. *Small Ruminant*.
- Courcy, G. P., Frelut, M. L., Fricker, J., Martin, A., & Dupin, H. (2003). Besoins nutritionnels et apports conseillés pour la satisfaction de ces besoins.
- Cox, S. P., Essington, T. E., Kitchell, J. F., Martell, S. J., Walters, C. J., Boggs, C., & Kaplan, I. (2002). Reconstructing ecosystem dynamics in the central Pacific Ocean, 1952-1998. II. A preliminary assessment of the trophic impacts of fishing and effects on tuna dynamics. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 59(11), 1736-1747.
- Decker, E. A., & Xu, Z. (1998). Minimizing rancidity in muscle foods. *Food technology (USA)*.
- Djénéba, P. B. (2013). Effet du macrophyte *Ceratophyllum submersum* sur les communautés phytoplanctoniques naturelles des réservoirs de Bama et de Boura au Burkina Faso.
- Erberich, L. C., Alcântara, V. M., Picheth, G., & Scartezini, M. (2002). Hormone replacement therapy in postmenopausal women and its effects on plasma lipid levels. *Clinical chemistry and laboratory medicine*, 40(5), 446-451.
- Evans, G. T., & Pepin, P. (1989). Potential for predicting plankton populations (and fish recruitment) from environmental data. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 46(5), 898-903.

REFERECES BIBLIOGRAPHIQUES

- Ewald, G., Bremle, G., & Karlsson, A. (1998). Differences between Bligh and Dyer and Soxhlet extractions of PCBs and lipids from fat and lean fish muscle: Implications for data evaluation. *Marine pollution bulletin*, 36(3), 222-230.
- 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* (Doctoral dissertation, Université de Nantes).
- Falch, E., Størseth, T. R., & Aursand, M. (2006). Multi-component analysis of marine lipids in fish gonads with emphasis on phospholipids using high-resolution NMR spectroscopy. *Chemistry and physics of lipids*, 144(1), 4-16.
- Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108.
- Favier, A. (2006, November). Stress oxydant et pathologies humaines. In *Annales pharmaceutiques françaises* (Vol. 64, No. 6, pp. 390-396). Elsevier Masson.
- Folch, J., Lees, M., & Sloane-Stanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol chem*, 226(1), 497-509.
- Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., & Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène. *L'actualité chimique*, 91.
- Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4), 162-169.
- Holub, D. J., & Holub, B. J. (2004). Omega-3 fatty acids from fish oils and cardiovascular disease. *Molecular and cellular biochemistry*, 263(1), 217-225.
- Houta, O., Chouaeb, H., Neffati, M., & Amri, H. (2012). Criblage Chimique Préliminaire des Protéines et Caroténoïdes Présents dans un Crithmum Maritimum Cultivé en Tunisie. *Nous*, 11, 12.
- Hwang, D. F., Hour, J. L., & Cheng, H. M. (2000). Effect of taurine on toxicity of oxidized fish oil in rats. *Food and chemical toxicology*, 38(7), 585-591.
- Jacobson, P. (2006). *U.S. Patent Application No. 11/549,581*.
- Jonsson, J. A. (1987). *Chromatographic theory and basic principles* (Vol. 38). CRC Press.
- Kawabori, M., Kacimi, R., Karliner, J. S., & Yenari, M. A. (2013). Sphingolipids in cardiovascular and cerebrovascular systems: pathological implications and potential therapeutic targets. *World J Cardiol*, 5(4), 75-86.
- Khaled, H. B., Ktari, N., Ghorbel-Bellaaj, O., Jridi, M., Lassoued, I., & Nasri, M. (2014). Composition, functional properties and in vitro antioxidant activity of protein hydrolysates prepared from sardinelle (*Sardinella aurita*) muscle. *Journal of food science and technology*, 51(4), 622-633.
- Khandelwal, S., Shidhaye, R., Demonty, I., Lakshmy, R., Gupta, R., Prabhakaran, D., & Reddy, S. (2013). Impact of omega-3 fatty acids and/or plant sterol supplementation on non-HDL cholesterol levels of dyslipidemic Indian adults. *Journal of Functional Foods*, 5(1), 36-43.

REFERECES BIBLIOGRAPHIQUES

- Kartal, N., Sokmen, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., & Sokmen, A. (2007). Investigation of the antioxidant properties of *Ferula orientalis* L. using a suitable extraction procedure. *Food Chemistry*, *100*(2), 584-589.
- Kim, S. K., & Mendis, E. (2006). Bioactive compounds from marine processing byproducts—a review. *Food Research International*, *39*(4), 383-393.
- Kim, Y. J., Kim, H. J., No, J. K., Chung, H. Y., & Fernandes, G. (2006). Anti-inflammatory action of dietary fish oil and calorie restriction. *Life sciences*, *78*(21), 2523-2532.
- Kirimlioglu, V., Kirimlioglu, H., Yilmaz, S., Ozgor, D., Coban, S., Karadag, N., & Yologlu, S. (2006, March). Effect of fish oil, olive oil, and vitamin E on liver pathology, cell proliferation, and antioxidant defense system in rats subjected to partial hepatectomy. In *Transplantation proceedings* (Vol. 38, No. 2, pp. 564-567). Elsevier.
- Kortenska, V. D., Velikova, M. P., Yanishlieva, N. V., Totzeva, I. R., Bankova, V. S., & Marcucci, M. C. (2002). Kinetics of lipid oxidation in the presence of cinnamic acid derivatives. *European journal of lipid science and technology*, *104*(1), 19-28.
- Kramer, K., Tseng, C. H., & Ma, K. (2013). Measuring the Levels of EPA and DHA in Nutraceutical Oils. In *Omega-6/3 Fatty Acids* (pp. 365-384). Humana Press.
- Kucera-Hirzinger, V., Schludermann, E., Zornig, H., Weissenbacher, A., Schabuss, M., & Schiemer, F. (2009). Potential effects of navigation-induced wave wash on the early life history stages of riverine fish. *Aquatic sciences*, *71*(1), 94-102.
- Larsson, S. C., Kumlin, M., Ingelman-Sundberg, M., & Wolk, A. (2004). Dietary long-chain n-3 fatty acids for the prevention of cancer: a review of potential mechanisms. *The American journal of clinical nutrition*, *79*(6), 935-945.
- Li, B., Zhang, C., Peng, L., Liang, Z., Yan, X., Zhu, Y., & Liu, Y. (2015). Comparison of essential oil composition and phenolic acid content of selected *Salvia* species measured by GC-MS and HPLC methods. *Industrial Crops and Products*, *69*, 329-334
- Lebreton, P., Jay, M., Voirin, B., & Bouchez, M. P. (1967). Sur l'analyse qualitative et quantitative des flavonoïdes. *Chim. Anal. Fr*, *49*(7), 375-383.
- Lefevre, F., & Bugeon, J. (2008). Déterminisme biologique de la qualité des poissons. *viandes*, 139.
- Lemercier, P., & Thouard, E. (2005). Participation au 5ème comité-mixte Ifremer-SOA (Pékin-Qingdao, 27 mars-03 avril 2005). Rapport de mission.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J biol Chem*, *193*(1), 265-275.
- Lu, Tzong-shi., Yiao, S. Y., Lim, K., Jensen, R. V., & Hsiao, L. L. (2010). Interpretation of biological and mechanical variations between the Lowry versus Bradford method for protein quantification. *North American journal of medical sciences*, *2*(7), 325.
- Mahadik, S. P., Evans, D., & Lal, H. (2001). Oxidative stress and role of antioxidant and ω -3 essential fatty acid supplementation in schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, *25*(3), 463-493.

REFERECES BIBLIOGRAPHIQUES

- Makrides, M., Duley, L., & Olsen, S. F. (2006). Marine oil, and other prostaglandin precursor, supplementation for pregnancy uncomplicated by pre-eclampsia or intrauterine growth restriction. *Cochrane Database Syst Rev*, 3.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, 79(5), 727-747.
- Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E., & Kefalas, P. (2005). Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food chemistry*, 89(3), 411-420.
- Maroon, J. C., & Bost, J. W. (2006). ω -3 Fatty acids (fish oil) as an anti-inflammatory : an alternative to nonsteroidal anti-inflammatory drugs for discogenic pain. *Surgical neurology*, 65(4), 326-331.
- Médale, F., Lefevre, F., & Corraze, G. (2003). Qualité nutritionnelle et diététique des poissons : Constituants de la chair et facteurs de variations : Poissons. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 38(1), 37-44.
- Mendis, E., Rajapakse, N., & Kim, S. K. (2005). Antioxidant properties of a radical-scavenging peptide purified from enzymatically prepared fish skin gelatin hydrolysate. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(3), 581-587.
- Mirabella, F. M. (1998). *Attenuated total reflection spectroscopy* (pp. 127-184). Wiley Scientific, New York.
- Mortensen, S. H., Børsheim, K. Y., Rainuzzo, J., & Knutsen, G. (1988). Fatty acid and elemental composition of the marine diatom *Chaetoceros gracilis* Schütt. Effects of silicate deprivation, temperature and light intensity. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 122(2), 173-185.
- Naghraoui, M. (2015). *Activités antioxydantes et antimicrobiennes de l'extrait brut et ses fractions de l'algue rouge Coraiina officinalis, récoltée sur la côte ouest algérienne (plage de Madrid)* (Doctoral dissertation).
- Nappo, F., De Rosa, N., Marfella, R., De Lucia, D., Ingrosso, D., Perna, A. F., ... & Giugliano, D. (1999). Impairment of endothelial functions by acute hyperhomocysteinemia and reversal by antioxidant vitamins. *Jama*, 281(22), 2113-2118.
- Obodai, E. A., Abbey, I. D., & MacCarthy, C. (2009). Biochemical composition of some marine fish species of Ghana. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 3(2).
- Ouattara, B., Simard, R. E., Holley, R. A., Piette, G. J. P., & Bégin, A. (1997). Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. *International journal of food microbiology*, 37(2), 155-162.
- Penen, F. (2015). *Imagerie cellulaire du stress métallique induit par le cadmium chez la micro-algue verte Chlamydomonas reinhardtii par techniques synchrotron μ XRF/XAS et nanoSIMS* (Doctoral dissertation, Pau).

REFERECES BIBLIOGRAPHIQUES

Piclet, G. (1987). Le poisson aliment. Composition-intérêt nutritionnel. *Cahiers de Nutrition et de Dietetique*, 22(4), 317-336.

Pizato, N., Bonatto, S., Piconcelli, M., de Souza, L. M., Sasaki, G. L., Naliwaiko, K., ... & Fernandes, L. C. (2006). Fish oil alters T-lymphocyte proliferation and macrophage responses in Walker 256 tumor-bearing rats. *Nutrition*, 22(4), 425-432.

Puglia, C., Tropea, S., Rizza, L., Santagati, N. A., & Bonina, F. (2005). In vitro percutaneous absorption studies and in vivo evaluation of anti-inflammatory activity of essential fatty acids (EFA) from fish oil extracts. *International journal of pharmaceutics*, 299(1), 41-48.

Rajapakse, N., Mendis, E., Jung, W. K., Je, J. Y., & Kim, S. K. (2005). Purification of a radical scavenging peptide from fermented mussel sauce and its antioxidant properties. *Food Research International*, 38(2), 175-182.

Redmile-Gordon, M. A., Armenise, E., White, R. P., Hirsch, P. R., & Goulding, K. W. T. (2013). A comparison of two colorimetric assays, based upon Lowry and Bradford techniques, to estimate total protein in soil extracts. *Soil Biology and Biochemistry*, 67, 166-173.

Rindby, A., Engström, P., Janssens, K., & Osan, J. (1997). Micro-distribution of heavy elements in highly inhomogeneous particles generated from μ -beam XRF/XRD analysis. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 124(4), 591-604.

Romani, A., Pinelli, P., Cantini, C., Cimato, A., & Heimler, D. (2006). Characterization of Violetto di Toscana, a typical Italian variety of artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Food Chemistry*, 95(2), 221-225.

Ruzin, A., Singh, G., Severin, A., Yang, Y., Dushin, R. G., Sutherland, A. G., & Bradford, P. A. (2004). Mechanism of action of the mannopeptimycins, a novel class of glycopeptide antibiotics active against vancomycin-resistant gram-positive bacteria. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 48(3), 728-738.

Ryu, C. M., Kim, J., Choi, O., Kim, S. H., & Park, C. S. (2006). Improvement of biological control capacity of *Paenibacillus polymyxa* E681 by seed pelleting on sesame. *Biological Control*, 39(3), 282-289.

Sánchez-Moreno, C. (2002). Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food science and technology international*, 8(3), 121-137.

Schmidt, H. H., Strehl, S., Thaler, D., Strunk, D., Sill, H., Linkesch, W., & Emberger, W. (2004). RT-PCR and FISH analysis of acute myeloid leukemia with t (8; 16)(p11; p13) and chimeric MOZ and CBP transcripts: breakpoint cluster region and clinical implications. *Leukemia*, 18(6), 1115-1121.

Sellami, M., Rebah, F. B., Gargouri, Y., & Miled, N. (2014). Lipid composition and antioxidant activity of liver oils from ray species living in Tunisian coasts. *Arabian Journal of Chemistry*.

REFERECES BIBLIOGRAPHIQUES

Serot, T., & Lafficher, C. (2003). Optimisation of solid-phase microextraction coupled to gas chromatography for determination of phenolic compounds in smoked herring. *Food chemistry*, 82(4), 513-519.

Thériault, M. (2004). *Étude des propriétés antioxydantes et antimutagènes de composés phénoliques issus de l'érable* (Doctoral dissertation, Université du Québec, Institut National de la Recherche Scientifique).

Tirzitis, G., & Bartosz, G. (2010). Determination of antiradical and antioxidant activity: basic principles and new insights. *Acta Biochim Pol*, 57(2), 139-42.

Tsai, Y. H., Lin, C. Y., Chien, L. T., Lee, T. M., Wei, C. I., & Hwang, D. F. (2006). Histamine contents of fermented fish products in Taiwan and isolation of histamine-forming bacteria. *Food Chemistry*, 98(1), 64-70.

Unger, C., & Eibl, H. (1991). Hexadecylphosphocholine: preclinical and the first clinical results of a new antitumor drug. *Lipids*, 26(12), 1412-1417.

Uran, H., & Gokoglu, N. (2014). Effects of cooking methods and temperatures on nutritional and quality characteristics of anchovy (*Engraulis encrasicolus*). *Journal of food science and technology*, 51(4), 722-728.

Vila-Gispert, A., García-Berthou, E., & Moreno-Amich, R. (2002). Fish zonation in a Mediterranean stream: Effects of human disturbances. *Aquatic Sciences*, 64(2), 163-170.

Wang, C., Xia, W., Xu, Y., Jiang, Q., Yin, S., Yang, Y., & Yu, P. (2013). Anti-platelet-activating factor, antibacterial, and antiradical activities of lipids extract from silver carp brain. *Lipids in health and disease*, 12(1), 1.

Watanabe, T., Kiron, V., & Satoh, S. (1997). Trace minerals in fish nutrition. *Aquaculture*, 151(1), 185-207.

Weisinger, H. S., Armitage, J. A., Sinclair, A. J., Vingrys, A. J., Burns, P. L., & Weisinger, R. S. (2001). Perinatal omega-3 fatty acid deficiency affects blood pressure later in life. *Nature medicine*, 7(3), 258-259.

Wu, R. S. S., Lam, K. S., MacKay, D. W., Lau, T. C., & Yam, V. (1994). Impact of marine fish farming on water quality and bottom sediment: a case study in the sub-tropical environment. *Marine Environmental Research*, 38(2), 115-145.

Wu, T. H., & Bechtel, P. J. (2008). Salmon by-product storage and oil extraction. *Food Chemistry*, 111(4), 868-871.

Xiao, L., Mjøs, S. A., & Haugsgjerd, B. O. (2012). Efficiencies of three common lipid extraction methods evaluated by calculating mass balances of the fatty acids. *Journal of food composition and analysis*, 25(2), 198-207.

Zhang, J. (2009). *Analysis and Characterization of Consumer Products by FTIR, Raman, Chemometrics, and two-dimensional ATR-FTIR correlation Spectroscopy* (Doctoral dissertation, Rutgers University-Graduate School-New Brunswick).

<http://www.fishbase.org/>.

ANNEXES

ANNEXE 1 : COURBES D'ETALONNAGES

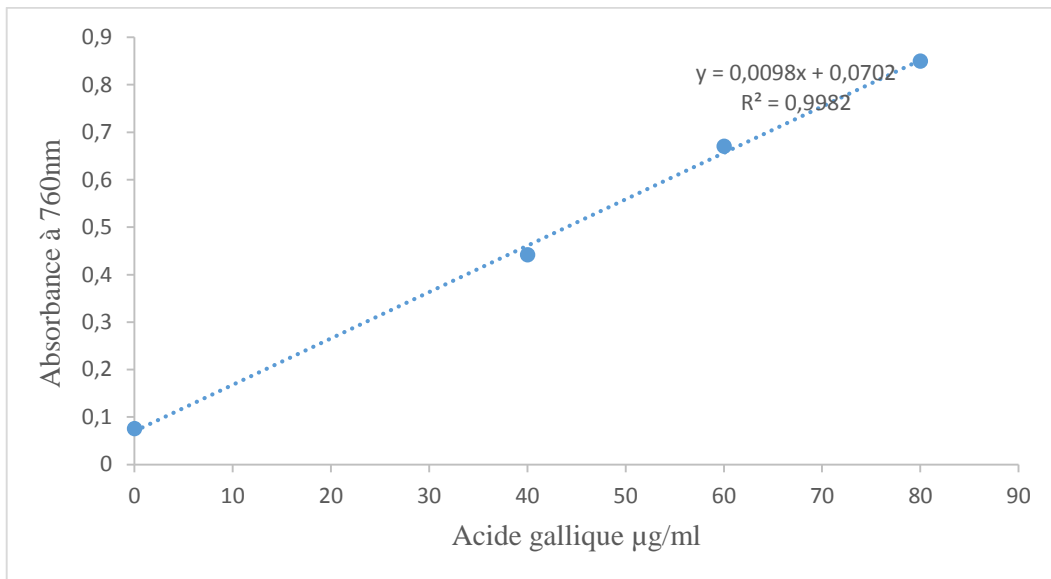


Figure 1 : Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux.

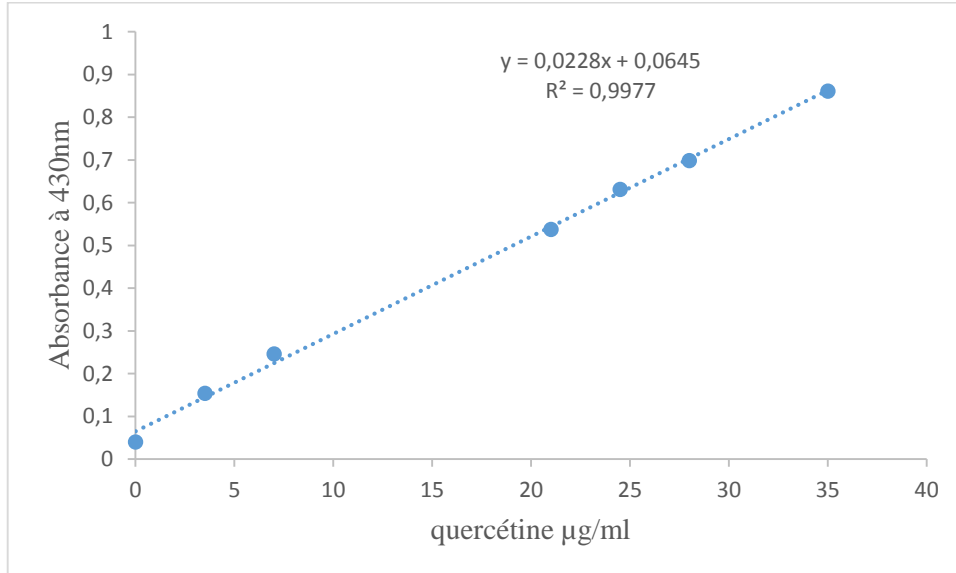


Figure 2 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes totaux.

ANNEXES

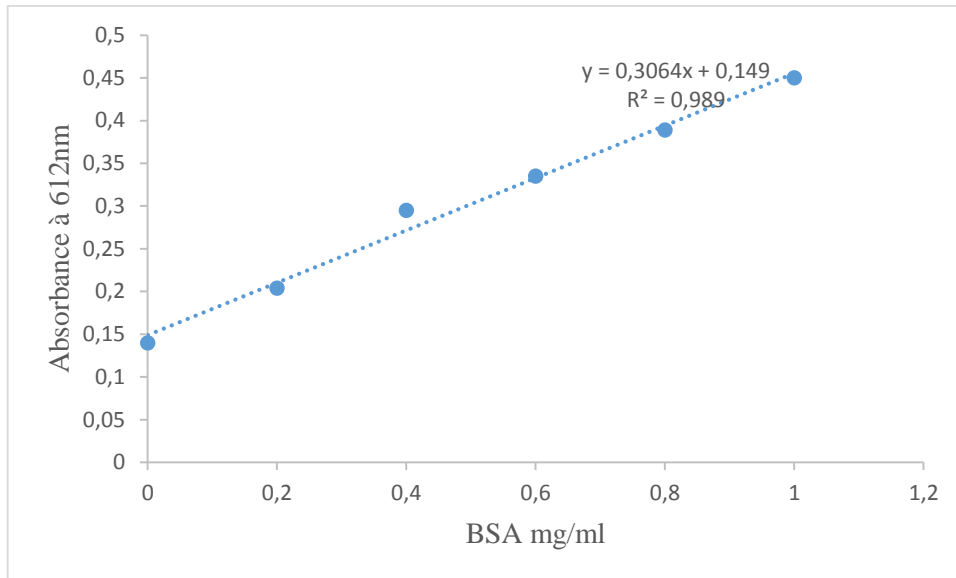


Figure 3 : Courbe d'étalonnage de protéines totales par Bradford.

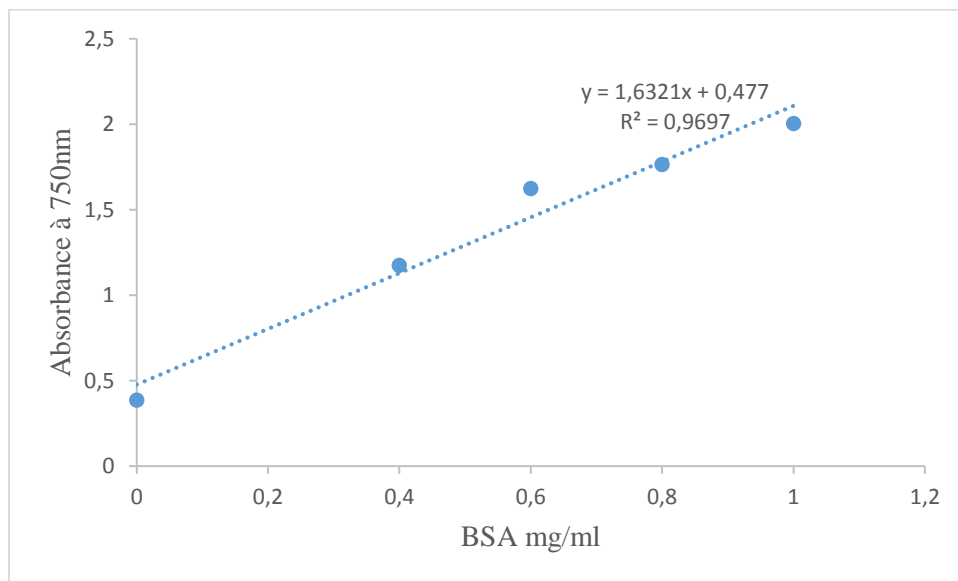


Figure 4 : Courbe d'étalonnage de protéines totales par Lowry.

ANNEXES

ANNEXE 2 : MATRICES DE DISTANCES

Comparaison du rendement entre les cinq espèces de poissons

Tableau I : Matrice des distances de rendements des espèces

	<i>S.aurita</i>	<i>P.erythrinus</i>	<i>S.pilchardus</i>	<i>E.encrasicolus</i>	<i>T.Trachurus</i>
<i>S.aurita</i>	0	3,7	22,1	26	27,3
<i>P.erythrinus</i>	3,7	0	20,4	24,4	25,7
<i>S.pilchardus</i>	22,1	20,4	0	4	5,3
<i>E.encrasicolus</i>	26	24,4	4	0	1,3
<i>T.Trachurus</i>	27,3	25,7	5,3	1,3	0

Tableau II : Matrice de distance des polyphénols pour les extraits

	Muscle	Coproduit	Soxhlet	Folch PS	Folch PI
Muscle	0	14,5	19,9	9,5	14,8
Coproduit	14,5	0	10,4	5,6	6,9
Soxhlet	19,9	10,4	0	14,5	5,2
Folch PS	9,5	5,6	14,5	0	9,6
Folch PI	14,8	6,9	5,2	9,6	0

Tableau III : Matrice de distance des polyphénols pour les espèces

	<i>S.aurita</i>	<i>P.eruthrinus</i>	<i>S.pilchardus</i>	<i>E.encrasicolus</i>	<i>T.trachurus</i>
<i>S.aurita</i>	0	14,2	25,7	26,2	26,4
<i>P.eruthrinus</i>	14,2	0	35,2	35,7	35,9
<i>S.pilchardus</i>	25,7	35,2	0	0,6	0,8
<i>E.encrasicolus</i>	26,2	35,7	0,6	0	0,2
<i>T.trachurus</i>	26,4	35,9	0,8	0,2	0

Dosage des flavonoïdes

Tableau IV : Matrice de distance des flavonoïdes pour les extraits

	Muscle	Coproduit	Soxhlet	Folch PS	Folch PI
Muscle	0,00	11,85	5,22	4,89	4,22
Coproduit	11,85	0,00	16,97	16,64	15,97
Soxhlet	5,22	16,97	0,00	0,35	1,12
Folch PS	4,89	16,64	0,35	0,00	0,88
Folch PI	4,22	15,97	1,12	0,88	0,00

ANNEXES

Tableau V : Matrices de distance des flavonoïdes pour les espèces

	<i>S.aurita</i>	<i>P.eruthrinus</i>	<i>S.pilchardus</i>	<i>E.encrasicolus</i>	<i>T.trachurus</i>
<i>S.aurita</i>	0	4,96	2,24	1,6	6,36
<i>P.eruthrinus</i>	4,96	0	2,91	3,39	1,47
<i>S.pilchardus</i>	2,24	2,91	0	0,73	4,35
<i>E.encrasicolus</i>	1,6	3,39	0,73	0	4,8
<i>T.trachurus</i>	6,36	1,47	4,35	4,8	0

Dosage des protéines

La méthode de Lowry

Tableau VI : Matrice de distance des extraits par Lowry

	Muscle	Coproduit	Folch PS	Folch PI
Muscle	0	56	96,9	103
Coproduit	56	0	79,3	89
Folch PS	97	79,3	0	13
Folch PI	103	89,1	13,3	0

Tableau VII : Matrice de distance des espèces par Lowry

	<i>S.aurita</i>	<i>P.erythrinus</i>	<i>S.pilchardus</i>	<i>E.encrasilus</i>	<i>T.Trachurus</i>
<i>S.aurita</i>	0	64,8	13,8	25,3	39,5
<i>P.erythrinus</i>	64,8	0	57,7	42,4	38,6
<i>S.pilchardus</i>	13,8	57,7	0	21	38,8
<i>E.encrasilus</i>	25,3	42,4	21	0	18,3
<i>T.Trachurus</i>	39,5	38,6	38,8	18,3	0

La méthode de Bradford

Tableau VIII : Matrice de distance des espèces par Bradford

	<i>S.aurita</i>	<i>P.erythrinus</i>	<i>S.pilchardus</i>	<i>E.encrasilus</i>	<i>T.Trachurus</i>
<i>S.aurita</i>	0	29	51	78	160
<i>P.erythrinus</i>	29	0	33	73	145
<i>S.pilchardus</i>	51	33	0	45	167
<i>E.encrasilus</i>	78	73	45	0	213
<i>T.Trachurus</i>	160	145	167	213	0

ANNEXES

Tableau IX : Matrice de distance des extraits par Bradford

	Muscle	Coproduit	Folch PS	Folch PI
Muscle	0	351	201	197
Coproduit	351	0	534	529
Folch PS	201	534	0	7
Folch PI	197	529	7	0

Test des activités antioxydant :

Test de blanchissement de la β -carotène

Tableau X : Matrice de distance de test de blanchissement de la β -carotène pour muscles.

	<i>S.aurita</i>	<i>P.erythrinus</i>	<i>S.pilchardus</i>	<i>E.encrasicolus</i>	<i>T.trachurus</i>
<i>S.aurita</i>	0	11,7	10,3	27	22,9
<i>P.erythrinus</i>	11,7	0	9	33,5	14,5
<i>S.pilchardus</i>	10,3	9	0	26	19
<i>E.encrasicolus</i>	27	33,5	26	0	39,4
<i>T.trachurus</i>	22,9	14,5	19	39,4	0

Tableau XI : Matrice de distance de test de blanchissement de la β -carotène pour coproduits.

	<i>S.aurita</i>	<i>P.erythrinus</i>	<i>S.pilchardus</i>	<i>E.encrasicolus</i>	<i>T.trachurus</i>
<i>S.aurita</i>	0	34,4	36	26,1	70,7
<i>P.erythrinus</i>	34,4	0	6,8	12,7	37,6
<i>S.pilchardus</i>	36	6,8	0	11,3	37,4
<i>E.encrasicolus</i>	26,1	12,7	11,3	0	47,5
<i>T.trachurus</i>	70,7	37,6	37,4	47,5	0

Effet scavenger du radical DPPH

Tableau XII : Matrice de distance du radical DPPH pour les extraits

	Muscle	Coproduit	Soxhlet	Folch PS
Muscle	0	23,8	34,2	32,3
Coproduit	23,8	0	45,5	42,4
Soxhlet	34,2	45,5	0	9,4
Folch PS	32,3	42,4	9,4	0

Tableau XIII ; Matrice distance du radical DPPH pour les espèces.

	<i>S.aurita</i>	<i>P.erythrinus</i>	<i>S.pilchardus</i>	<i>E.encrasicolus</i>	<i>T.trachurus</i>
<i>S.aurita</i>	0	22,4	23,4	24	24,8
<i>P.erythrinus</i>	22,4	0	7,7	16,1	24,1
<i>S.pilchardus</i>	23,4	7,7	0	15,5	21,1
<i>E.encrasicolus</i>	24	16,1	15,5	0	10,5
<i>T.trachurus</i>	24,8	24,1	21,1	10,5	0

ANNEXES

ANNEXE 3 : COMPOSITION MINERALE

Tableau I : composition minérale de la chair l'espèce *S. aurita*.

Elem.	Line	Mass [%]	2sigma [%]	Atomic [%]	Intensity [cps/mA]
15	P K	8.93	0.79	10.74	16.72
16	S K	14.89	0.65	17.29	49.72
19	K K	53.72	1.31	51.13	86.42
20	Ca K	22.45	1.32	20.85	23.27

Tableau II : composition minérale de la chair l'espèce *S. pilchardus*.

Elem.	Line	Mass [%]	2sigma [%]	Atomic [%]	Intensity [cps/mA]
15	P K	18.09	1.62	20.65	26.23
16	S K	26.59	1.64	29.33	55.27
19	K K	55.32	2.06	50.02	55.98

Tableau III : composition minérale de la chair l'espèce *E. encrasicolus*.

Elem.	Line	Mass [%]	2sigma [%]	Atomic [%]	Intensity [cps/mA]
15	P K	9.19	0.47	10.84	30.73
16	S K	16.18	0.42	18.43	93.99
17	Cl K	15.54	0.48	16.01	59.38
19	K K	40.62	0.77	37.92	91.81
20	Ca K	18.46	0.66	16.81	35.10

Tableau IV : composition minérale de la chair l'espèce *T. Trachurus*.

Elem.	Line	Mass [%]	2sigma [%]	Atomic [%]	Intensity [cps/mA]
15	P K	9.31	1.15	11.05	6.86
16	S K	18.31	0.94	20.97	23.30
19	K K	72.38	1.35	67.98	41.18

ANNEXES

ANNEXE 4 : MATRICES DE CORRELATIONS

Tableau I : Matrice de corrélation des extraits pour les polyphénols.

	Muscle	Coproduit	Soxhlet	Folch PS	Folch PI
Muscle	1,00	0,89	0,98	0,94	1,00
Coproduit	0,89*	1,00	0,78	0,99	0,88
Soxhlet	0,98**	0,78	1,00	0,86	0,98
Folch PS	0,94*	0,99***	0,86	1,00	0,93
Folch PI	1,00***	0,88*	0,98**	0,93*	1,00
*** très hautement significative *** hautement significative * significative					

Tableau II : Matrice de corrélation des espèces pour les flavonoïdes.

	<i>S.aurita</i>	<i>P.erythrinus</i>	<i>S.pilchardus</i>	<i>E.encrasicolus</i>	<i>T.trachurus</i>
<i>S.aurita</i>	1,00	1,00	1,00	1,00	0,99
<i>P.erythrinus</i>	1,00***	1,00	1,00	1,00	0,99
<i>S.pilchardus</i>	1,00***	1,00***	1,00	1,00	0,97
<i>E.encrasicolus</i>	1,00***	1,00***	1,00***	1,00	0,99
<i>T.trachurus</i>	0,99**	0,99**	0,97**	0,99**	1,00
*** très hautement significative *** hautement significative * significative					

Tableau III : Matrice de corrélation des espèces par Lowry.

	<i>S.aurita</i>	<i>P.erythrinus</i>	<i>S.pilchardus</i>	<i>E.encrasicolus</i>	<i>T.trachurus</i>
<i>S.aurita</i>	1,00	0,32	0,89	0,83	0,84
<i>P.erythrinus</i>	0,32	1,00	0,66	0,78	0,78
<i>S.pilchardus</i>	0,89	0,66	1,00	0,98	0,97
<i>E.encrasicolus</i>	0,83	0,78	0,98 *	1,00	0,99
<i>T.trachurus</i>	0,84	0,78	0,97 *	0,99**	1,00
*** très hautement significative *** hautement significative * significative					

Tableau IV ; Matrice de corrélation des espèces par Bradford.

	<i>S.aurita</i>	<i>P.erythrinus</i>	<i>S.pilchardus</i>	<i>E.encrasicolus</i>	<i>T.trachurus</i>
<i>S.aurita</i>	1,00	0,99	0,97	0,96	0,96
<i>P.erythrinus</i>	0,99**	1,00	0,99	0,98	0,93
<i>S.pilchardus</i>	0,97*	0,99**	1,00	1,00	0,87
<i>E.encrasicolus</i>	0,96*	0,98*	1,00 **	1,00	0,85
<i>T.trachurus</i>	0,96*	0,93	0,87	0,85 **	1,00
*** très hautement significative *** hautement significative * significative					

Résumé : Cette étude menée sur les poudres des poissons marins du golf de Bejaia, a démontré que les meilleurs rendements sont donnés par la méthode de Folch, évalués en moyenne à 80,71%. Le profil chromatographique des acides gras issus par la CPG/FID et la FTIR montre l'existence des acides gras saturés, mono-insaturés et polyinsaturés. Par ailleurs, l'analyse de la composition minérale par la μ XRF révèle la présence du Potassium (K), du soufre (S) et du phosphore (P) chez toutes les espèces étudiées. Ce qui est du dosage des polyphénols et flavonoïdes il s'est avéré que la macération est le procédé le plus adéquat pour l'obtention d'un maximum d'extraction, et que les teneurs les plus importantes ont caractérisé les coproduits de *S. aurita*. Pour les protéines, il a été également enregistrées des teneurs élevées au niveau des coproduits mais aussi dans les muscles et cela pour toutes les espèces, malgré la variation dans les taux du rendement notés par Lowry et Bradford. L'étude de l'activité antioxydants et anti-radicalaire mène à conclure que l'espèce *T. trachurus* possède un intérêt major du fait que ses coproduits ont un pourcentage d'inhibition de la dégradation oxydative de la β -carotène le plus élevé (45,14%) et son muscle révèle le pouvoir réducteur de radical DPPH le plus important (17,91%). Le résultat de l'activité antimicrobienne révèle l'existence d'un effet bactéricide des extraits lipidiques.

Mots clés : poissons du golf de Bejaia, acides gras, minéraux, protéines, polyphénols, activités antioxydants.

Abstract: The study of marine fish powders of Bejaia Golf, has shown that the best yields are given by Folch method, estimated on average at 80.71%. The obtained profile chromatographic of fatty acids by GC/FID and FTIR shows the presence of saturated, monounsaturated, polyunsaturated fatty acids. Furthermore, mineral composition through μ XRF analysis reveals the presence of Potassium (K), Sulfur (S) and Phosphorus (P) in all species studied. Concerning, polyphenols and flavonoids it proved that the maceration is the most adequate process for obtaining a maximum of extraction, and the most important content have characterized *S. aurita* coproducts. For proteins, it has also recorded high levels in coproducts but also in muscles for all species. However, this rate levels are varied from Lowry to Bradford. The study of the antioxydants activity and anti-free radical carries out to conclude that the species *T. trachurus* has an interest major owing to the fact that its coproducts have the highest percentage inhibition of the oxidative decomposition of β -carotene (45,14%) and its muscle reveals the most significant reduction of radical DPPH (17,91%). The result of the antimicrobial activity reveals the bactericidal effect of lipid extracts.

Keywords: Bejaia Golf fish, fatty acids, minerals, proteins, polyphenols, antioxidant activity.

ملخص

هذه الدراسة على مساحيق من الاسماك البحرية لخليج بجاية، قد بينت أن أفضل نتيجة قد تحصلنا عليها طبق منهجية Folch التي قيمت بمعامل 80,71%. التحليل الكروماتوغرافي للأحماض الدهنية المتحصل عليها عن طريق الجهاز الكروماتوغرافي الغازي المقترن بكاشف اللهب المؤين (CPG/FID) ومقياس الأشعة تحت الحمراء بتحويل فورييه (FTIR) توضح وجود الأحماض الدهنية المشبعة، غير أحادية التشبع وغير متعددة التشبع. من جهة أخرى، تحليل المركب المعدني بجهاز الومس الميكروفلوري بالأشعة السينية (μ XRF) تظهر وجود البوتاسيوم (K)، الكبريت (S)، والفوسفور (P) عند جميع الأنواع المدروسة. فيما يخص معايرة البوليفينولات والفلافينويدات فقد أظهرت أن عملية النقع هي الطريقة الأنسب للحصول على أقصى استخلاص، وأن المنسوب المعتبر يميز بقايا النوع *S. aurita*. بالنسبة للبروتينات تم تسجيل منسوب عالي في البقايا وأيضاً على مستوى العضلات وهذا عند جميع الأنواع. بالرغم من تغيرات القيم المسجلة طبقاً لـ Lowry و Bradford. دراسة النشاطات المضادة للأكسدة والمضادة للجذور الحرة أدت الي استنتاج أن النوع *T. trachurus* يحتوي على فائدة كبرى حيث أن بقاياه تتميز بنسبة تثبيط عالية لتفاعل الأكسدة ل β -كاروتين (45,14%) وأن عضلاته تظهر قدرة على تخفيض الجذر DPPH بنسبة (17,91%). نتيجة النشاط المضاد للجراثيم تظهر وجود تأثير قاتل للبكتيريا في المستخلصات الليبيدية.

كلمات مفتاحية: أسماك خليج بجاية، أحماض دهنية، أملاح معدنية، بروتينات، بوليفينول، نشاطات مضادة للأكسدة.