

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE**  
جامعة 20 اوت 1955- سكيكدة  
**UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA**



**Faculté des Sciences**  
**Département des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Mémoire Présenté en Vue de l'obtention du Diplôme de Master –**  
**Filière : sciences biologiques**  
**Spécialité biochimie appliquée**

**Dans le cadre de du décret 1275- Start-up**  
**Incubateur de l'Université 20 Aout 1855-Skikda**  
**Intitulé :**

**Extraction et valorisation de collagène naturel**

***Présenté Par : Mlle AMIRA Asma***

**Membre de Jury :**

Dr. BENDIB Riyad	Président	Univ. du 20 Août 1955– Skikda
Dr. BECHEKER Imène (MCA)	Promotrice	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda
Dr. BOUHADDOUDA Nabila (MCB)	Examinatrice	Univ. du 20 Août 1955– Skikda
Dr. Kadous Toufik	Partenaire économique	
Dr. Lekoui Abdelhafid	Expert en BMC	

**Année universitaire 2023/2024**

# ***Remerciements***

*Avant tout, je remercie Dieu de m'avoir donné le courage, la patience et la volonté pour réaliser ce travail.*

*Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu voir le jour sans l'aide et l'encadrement de chère Docteur " BECHEKER IMÈNE " qui a accepté de m'encadrer, je le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.*

*Comme je tiens à remercier madame « Nacira » ingénieur au labo de Biochimie au niveau du hall de technologie de notre université, qui a mis à ma disposition les outils et l'équipement nécessaire pour réaliser mon étude.*

*Je veux remercier chaleureusement les membres du jury :*

*Dr. Bendib R / Dr. Kadous T / Dr Bouhadouda N /*

*Merci beaucoup d'avoir accepté de juger ce modeste travail.*

*Je remercie aussi tous mes enseignants du Département des Sciences de la Nature et la Vie, Particulièrement le chef de département et les enseignants de Biochimie.*

*A celui qui m'a toujours aidé, écouté, soutenu et encouragé et à mes amis et toutes les personnes qui ont contribué au succès de mon travail et qui m'ont aidé lors de la rédaction de ce mémoire.*

# Dédicaces

*Je dédie ce mémoire à :*

*Mon père, "AMIRA NOUREDDINE", Qu'il peut être fier de trouver le résultat des longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à Avancer dans la vie. Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien Permanent venu de toi.*

*Mon adorable mère WARDA, Merci pour tout ce que tu as fait au fil des années pour moi.*

*Mes chères petites sœurs : INES et ASSIL, que Dieu les protège et leur offre la chance et le bonheur.*

*A ma chère grand-mère " Mima yamouna " et ma chère tante NACIRA.*

*À tous mes oncles et tantes : qui ont tout l'amour et l'appréciation pour moi.*

*Je le dédie à tous mes cousines et cousins : Ahlem, Widad , Khawla , Majda, Manar, Taqi el-Dine, Housseem, Iyad.*

*Aussi, a mes chers amis, frères et sœurs : Ahlem, Selsabil , Imoş, Chaima, Rayane, Ahmed et Akram , que j'ai trouvé à mes côtés dans tous les moments.*

*En fin, je souhaite le succès pour moi et tous ceux qui m'ont soutenu, et Je me remercie pour la persévérance qui n'a pas lâché malgré toutes les circonstances.*

## Résumé

Le mode de vie moderne lié à l'évolution des habitudes alimentaires à l'échelle mondiale a entraîné l'augmentation incessante du volume, et le caractère dommageable, des déchets qui sont devenues une préoccupation majeure de la politique de l'environnement et de la santé. Entre autre, la majorité de ces déchets peuvent être recyclables et permettent la création de nouveaux produits utilisés dans divers secteurs, tels que l'alimentaire, la médecine, la pharmacie et le cosmétique.

Le but de notre travail est l'extraction d'un collagène (Halal) à partir des pattes de volailles, considérées comme étant un polluant de l'environnement non exploitable.

Nous avons procédé à une optimisation des conditions d'extraction (Température, Ph et temps) afin d'avoir un produit pure avec un maximum de rendement. Une caractérisation physico-chimique ainsi que bactériologique à été réalisée.

Les meilleurs résultats sont obtenus dans les conditions suivantes : la concentration de NaOH est de 0,5M avec une agitation pendant 6h ; la concentration de l'acide acétique est de 0,5 M également avec 2h d'agitation à 45 C° à 150 tours/min. Un rendement de 9% a été obtenu, on a pu confirmer la présence de notre collagène par dosage selon la méthode de Bradford (9797,14 ug/ml). La qualité microbiologique est satisfaisante.

**Mots clés :** Analyses bactériologiques, Collagène, Extraction, Pattes de poulet

## **Abstract**

The modern lifestyle linked to the evolution of eating habits on a global scale has led to the incessant increase in the volume, and the damaging nature, of waste which has become a major concern of environmental and health policy. Among other things, the majority of this waste can be recyclable and allows the creation of new products used in various sectors, such as food, medicine, pharmacy and cosmetics.

The aim of our work is the extraction of collagen (Halal) from poultry feet, considered to be an unusable environmental pollutant.

We have carried out an optimization of the extraction conditions (Temperature, Ph and time) in order to have a pure product with maximum yield. A physicochemical as well as bacteriological characterization was carried out.

The best results are obtained under the following conditions: the concentration of NaOH is 0.5M with stirring for 6 hours; the concentration of acetic acid is also 0.5 M with 2 hours of stirring at 45 °C at 150 rpm. A yield of 9% was obtained, we were able to confirm the presence of our collagen by assay according to the Bradford method (9797.14 µg/ml). The microbiological quality is satisfactory.

**Keywords:** Bacteriological analyses, Collagen, Extraction, Chicken feet

## المخلص

أدى نمط الحياة الحديث المرتبط بتطور عادات الأكل على نطاق عالمي إلى الزيادة المستمرة في حجم النفايات وطبيعتها الضارة التي أصبحت مصدر قلق كبير للسياسة البيئية والصحية. ومن بين أمور أخرى، يمكن إعادة تدوير غالبية هذه النفايات وتسمح بإنتاج منتجات جديدة تستخدم في مختلف القطاعات، مثل الغذاء والدواء والصيدلة ومستحضرات التجميل.

الهدف من عملنا هو استخلاص الكولاجين (الحلال) من أقدام الدواجن والذي يعتبر من الملوثات البيئية غير الصالحة للاستخدام.

لقد قمنا بتحسين ظروف الاستخراج (درجة الحرارة ودرجة الحموضة والوقت) من أجل الحصول على منتج نقي بأقصى قدر من العائد. تم إجراء التوصيف الفيزيائي والكيميائي وكذلك البكتريولوجي.

يتم الحصول على أفضل النتائج في ظل الظروف التالية: تركيز NaOH هو 0.5M مع التحريك لمدة 6 ساعات؛ يكون تركيز حمض الأسيتيك أيضًا 0.5 مولار مع التحريك لمدة ساعتين عند 45 درجة مئوية عند 150 دورة في الدقيقة. تم الحصول على عائد بنسبة 9%، وتمكننا من تأكيد وجود الكولاجين لدينا عن طريق الفحص وفقًا لطريقة برادفورد (9797.14 ميكروغرام/مل). الجودة الميكروبيولوجية مرضية.

**الكلمات المفتاحية:** التحاليل البكتريولوجية، الكولاجين، الاستخلاص، أقدام الدجاج .

## Sommaire

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Résumés	
<b>Introduction</b> .....	01

### Synthèse bibliographique

#### Chapitre 1 : Le poulet et la production de collagène

1. Production avicole dans le monde .....	03
2. Aperçu sur la filière avicole en Algérie.....	03
3. Présentation du poulet .....	04
4. La viande de poulet et valeur nutritionnelle.....	05
- une source de protéines maigres .....	05
- Riche en nutriments essentiels .....	06
- favoriser le développement musculaire : .....	06
5. Pattes de poulet : .....	07

#### Chapitre 2 : Le collagène

1. Définition du collagène .....	09
2. La super famille de collagène .....	09
3. La structure du collagène .....	10
4. La formation du collagène : (Biosynthèse). .....	11
5. Les Propriétés du collagène.....	12
6. Les différentes formes de collagène. ....	13
6.1. La gélatine .....	13
6.2. Collagène hydrolysé .....	13
7. Le rôle du collagène, <i>in vivo</i> .....	14
7.1. Les effets des peptides de collagène sur la santé : .....	14
- La peau .....	14
- Les os .....	15
- Les articulations .....	15
7.2. Autres effets du collagène .....	15

8. Différents Applications du collagène .....	16
8.1. Dans l'industrie alimentaire .....	16
8.2. En cosmétique : .....	16
8.3. Application médicale .....	17
8.4. Autres applications .....	17
9. Le marché de collagène dans le monde : .....	17

## **Partie Expérimental**

### **Matériel et méthodes**

1. Matériel Biologique .....	19
1.1. Préparation des échantillons .....	19
2. Méthode .....	20
2.1. Protocole d'extraction .....	20
2.1.1 Prétraitement des pattes de poulets avec solution Noah .....	20
2.1.2. Hydrolyse des pattes de poulet avec l'acide acétique (CH <sub>3</sub> COOH) : .....	21
2.1.3. Hydro-extraction .....	21
2.1.4. Le séchage .....	21
2.2. Caractérisation physico-chimique et bactériologique du collagène extrait .....	23
2.2.1. Caractéristiques physico-chimiques du collagène .....	23
2.2.1.1. Le Dosage des protéines .....	23
a. Préparation de la gamme étalon .....	23
b. Préparation des échantillons .....	23
c. Mesure de l'absorbance (dosage du collagène) .....	23
2.2.1.2. Caractérisation microbiologique .....	24

### **Résultats et Discussion**

1. Extraction du collagène et calcul du rendement : .....	26
2. Dosages des protéines .....	27
3. Caractérisation microbiologique .....	27

<b>Conclusion et perspectives</b> .....	29
---	----

<b>Références bibliographiques</b> .....	30
--	----

## Liste des abréviations

<b>Abréviation</b>	<b>Significations</b>
<b>ITAVI</b>	L'institut Technique de l'aviculture
<b>OCDE</b>	Organisation de coopération et de développement Économique
<b>FAO</b>	l'organisation pour l'alimentation et l'agriculture / Food and Agriculture Organisation.
<b>USDA</b>	United States departement of Agricultural
<b>TCAC</b>	Taux de croissance annuel composé.

## Liste des tableaux

<b>Numéro</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Valeur nutritionnelle de la viande du poulet	<b>06</b>
<b>02</b>	Les types de collagène chez les vertèbres	<b>10</b>
<b>03</b>	Les différentes formes de collagène utilisées	<b>14</b>
<b>04</b>	Résultat de rendement du collagène.	<b>27</b>
<b>05</b>	Résultat de dosage des protéines	<b>27</b>
<b>06</b>	Résultats d'analyses microbiologique du collagène extrait	<b>28</b>

## Liste des figures

<b>Numéro</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Production mondiale des viandes entre la période 1990-2019	<b>03</b>
<b>02</b>	L'évolution de la production de viande de volaille en Algérie de 1961 jusqu'à 2022	<b>04</b>
<b>03</b>	Représentation anatomique d'un poulet	<b>05</b>
<b>04</b>	Les pattes de poulet	<b>07</b>
<b>05</b>	La structure hiérarchique du tendon	<b>09</b>
<b>06</b>	Structure du collagène	<b>11</b>
<b>07</b>	Synthèse du collagène	<b>12</b>
<b>08</b>	Hydrolyse et dénaturation du collagène en gélatine	<b>13</b>
<b>09</b>	Poudre de collagène	<b>16</b>
<b>10</b>	Les pates de poulets conservés	<b>19</b>
<b>11</b>	Les étapes d'extraction du collagène	<b>22</b>
<b>12</b>	Résultat de la recherche de la flore totale aérobie mésophile	<b>28</b>

# *Introduction*

La demande et les exigences des consommateurs ainsi que les réglementations internationales en matière de produits alimentaires sont souvent orientées vers des produits sains et de meilleure qualité (**Lentz, 2008**). Ces demandes incluent des aliments à haute valeur nutritionnelle (par exemple, fibres, protéines et micronutriments), ainsi que des aliments présentant d'excellents aspects sensoriels, moins de calories et contenant peu de sucre, de sel, de graisse et d'autres caractéristiques indésirables. Ce scénario a stimulé la recherche explorant de nouvelles sources de nourriture et utilisant des sous-produits ou des déchets. Pour ces raisons, il existe un intérêt pour ces nouveaux produits alimentaires appelés aliments fonctionnels (**Santana et al., 2020**).

Parmi ces produits à intérêts, le collagène et la gélatine extraits de sources naturelles sont utilisés dans de nombreuses applications en tant qu'additifs alimentaires et ont récemment été explorés dans les domaines pharmaceutique et médical (**Schrieber et Gareis, 2007 ; Gómez-Estaca et al., 2016**). Le produit commercial le plus populaire est la gélatine de mammifères (porcs et bovins), qui est parfois soumise à de plus grandes restrictions et au scepticisme des consommateurs, en raison de préoccupations socioculturelles et sanitaires. Cependant, en raison de leur valeur nutritionnelle, la demande en collagène et en gélatine issus de la peau de porc augmente progressivement depuis 1990. De plus, des études ont récemment exploré d'autres sources naturelles de collagène et de gélatine, notamment les pattes de canard, le poisson et la volaille (**Huda et al., 2013**).

Ainsi, le collagène et la gélatine provenant de sources naturelles comme les pattes de poulet méritent une attention particulière car, bien que les pattes de poulet soient considérées comme des déchets dans de nombreux pays, elles contiennent des nutriments importants et ont des propriétés essentielles pour la santé, l'absence de toxicité, un bon rendement à partir d'une matière première abondante, compatibilité avec d'autres constituants dans de nombreuses formulations vu l'obtention de différents constituants à partir du collagène considéré dans ce cas comme halal (**Widyaninggar et al., 2012**).

Le collagène est devenu un produit de consommation usuelle que l'on retrouve pratiquement dans tous les domaines de la vie moderne. L'intérêt pour cette molécule a été croissant, tant que les avantages sont importants dans la consommation courante : pas de toxicité, quantité abondante de matières premières disponibles, choix de différentes qualités pour chaque application, compatibilité avec d'autres constituants dans de nombreuses formulations, etc.

Ses propriétés fonctionnelles uniques font de le collagène un des ingrédients importants de l'industrie cosmétique et pharmaceutique, alimentaire, médical... **(Schrieber et Gareis, 2007)**

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à l'extraction du collagène à partir d'un déchet d'abattoir qui est « les pates de poulets ». Ces dernières sont générées en grande quantité et qui doivent être gérées, exploitées et valorisées en raison de leur teneur en protéines. Cette richesse en protéines et notamment le collagène les rend précieux et potentiellement transformables en produits de grande valeur dans différents domaines industriels.

Pour cela, nous avons utilisé la méthode d'hydrolyse optimisée, une méthode économique et écologique permettant d'avoir un produit de qualité, valorisant les produits des différents industriels.

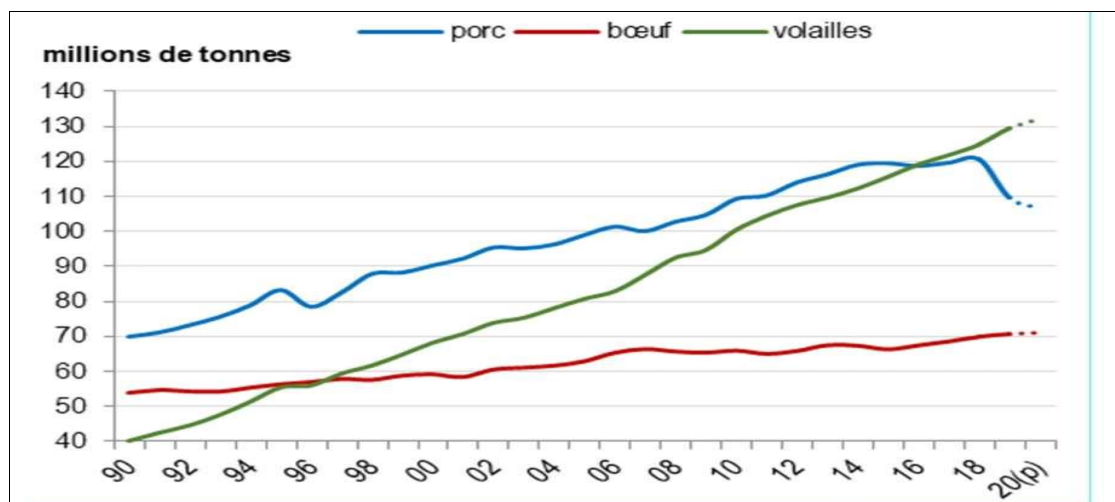
# *Synthèse bibliographique*

# *Chapitre 1*

## *Le poulet et la production de collagène*

## 1. Production avicole dans le monde

La volaille était la principale viande produite et consommée dans le monde en 2019, avec une production de 129 millions de tonnes, devant le porc (109 tonnes), le bœuf (70 tonnes) et le mouton (15 tonnes). Sa consommation a également connu la plus forte croissance : 3,3% par an depuis 2000, contre 1,4%, 1,5% et 0,9% pour le porc, l'agneau et le bœuf (**Figure 1**). La croissance de la filière avicole est principalement due à la production de poulet, qui représentait 90 % de la production mondiale en 2019 selon l'OCDE, tandis que les productions de dinde (5 %) et de canard (4 %) sont restées plus modestes, même si elles suivent également la dynamique de croissance au cours des 10 dernières années. Les principaux facteurs de succès de la volaille sont : des prix attractifs, l'absence d'interdits religieux et la facilité de développement de cette production (**Magdelaine, 2021**).



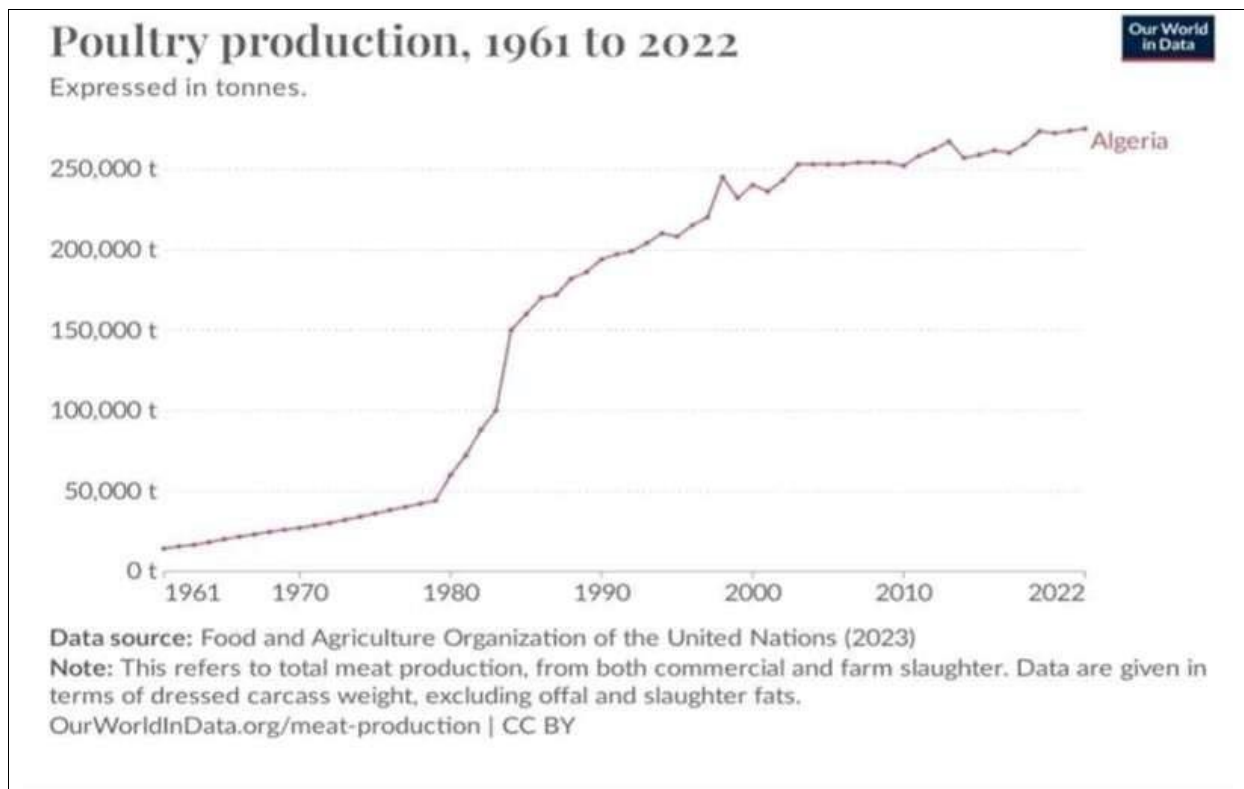
**Figure 1 : Evolution de la production mondiale des viandes entre 1990 et 2019**

(ITAVI d'après OCDE/FAO) (Web 01)

## 2. Aperçu sur la filière avicole en Algérie.

L'agriculture algérienne en général et la filière avicole en particulier ont subi plusieurs réformes et restructurations depuis l'indépendance. Ces dernières sont dictées par les politiques économiques appliquées par l'Algérie indépendante. D'une manière générale, la filière avicole en Algérie est passée par trois étapes distinctes. La première période de l'indépendance jusqu'à 1969, cette période marquée par l'autogestion où l'appareil productif national cherche encore ses repères. La deuxième phase qui s'étale de 1969 à 1989 est marquée par la volonté de l'Etat de propulser l'aviculture nationale, cette mission est confiée

à l'ONAB (Kirouani, 2020). La filière avicole en Algérie a connu une croissance remarquable depuis les années 1980 grâce à l'intervention de l'Etat. Ainsi, l'Algérie a choisi de moderniser ce secteur d'activité et de développer l'élevage avicole à grande échelle et de manière intensive. Cette approche a permis d'augmenter la part des protéines animales dans l'alimentation nationale, de moderniser la filière avicole, de créer des emplois et de générer d'importants revenus dans ce domaine (OFAL, 2001) (Figure 2).



**Figure 2 : Evolution de la production de viande de volaille en Algérie depuis 1961 jusqu'à 2022 (FAO, 2020).(Web 02)**

### 3. Présentation du poulet :

Un poulet est un oiseau jeune, mâle ou femelle, de la sous-espèce *Gallus gallus domesticus* (Figure 3), qui est élevé pour sa viande. Bien que ce soit le même animal, les méthodes d'élevage des poulets destinés à la consommation diffèrent de celles des poules pondeuses qui sont élevées pour leurs œufs. De plus, il s'agit d'un modèle animal important qui comble le fossé évolutif entre les mammifères et les autres vertébrés. La demande croissante de viande de volaille en raison de sa valeur nutritionnelle fait de l'industrie avicole l'une des industries agricoles les plus importantes et à la croissance la plus rapide au monde (Zhang et al., 2020).

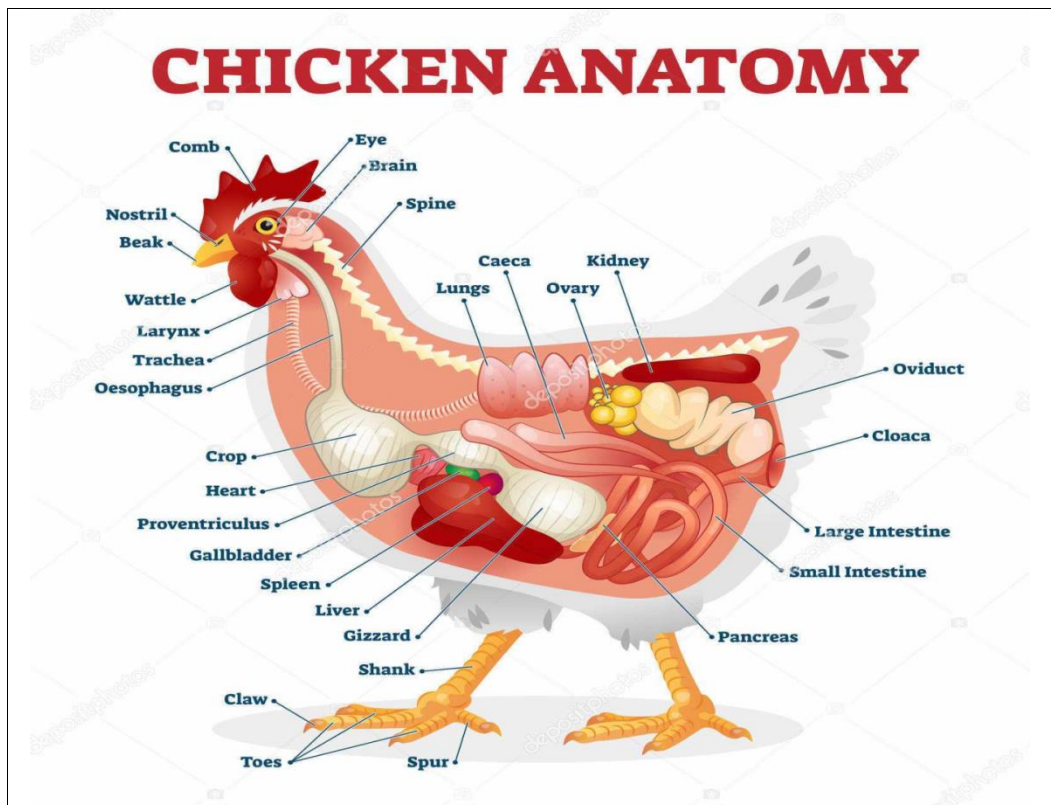


Figure 3 : Représentation anatomique d'un poulet (Web 03 )

#### 4. viande de poulet et valeur nutritionnelle :

La viande de volaille est une source courante de protéines sans graisse dans de nombreuses cultures du monde (Kaci 2007). (Tableau 1). Où les avantages alimentaires et les effets positifs sur la santé sont représentés par :

##### ❖ Une source de protéines maigres :

Contrairement à la viande rouge, la viande de volaille contient moins de graisses saturées. Elle convient parfaitement aux personnes qui souhaitent augmenter leur consommation de protéines maigres, indispensables pour : la croissance, la réparation des tissus corporels et le maintien de la masse musculaire, Il est crucial de noter que suivre un régime pauvre en graisses saturées est lié à une diminution du risque de maladies cardiovasculaires et de prise de poids (Techniques avicoles, 2018).

❖ **Riche en nutriments essentiels :**

La viande de volaille est aussi une importante source de plusieurs nutriments essentiels qui ont un rôle crucial dans le bon fonctionnement du corps, tels que : la niacine, la vitamine B6, la vitamine B12, le zinc, le sélénium, etc....(Techniques avicoles, 2018).

❖ **Favorise le développement musculaire :**

Les protéines sont des alliées pour augmenter la masse musculaire. La volaille est riche en protéines et en acides aminés essentiels, ce qui favorise la croissance musculaire et réduit la récupération musculaire après l'effort (Dusart, 2015).

**Tableau 1 : Valeur nutritionnelle de 100g de viande de poulet (USDA. 2019)**

<b>100 g de viande de poulet</b>	<b>Valeur nutritionnelle</b>
<b>Calories</b>	<b>239</b>
<b>Lipides</b>	<b>14 g</b>
<b>Acides gras saturés</b>	<b>3,8 g</b>
<b>Cholestérol</b>	<b>88 mg</b>
<b>Sodium</b>	<b>82 mg</b>
<b>Potassium</b>	<b>223 mg</b>
<b>Glucides</b>	<b>0 g</b>
<b>Fibres alimentaires</b>	<b>0 g</b>
<b>Sucres</b>	<b>0 g</b>
<b>Protéines</b>	<b>27 g</b>
<b>Vitamine C</b>	<b>0 mg</b>
<b>Calcium</b>	<b>15 mg</b>
<b>Fer</b>	<b>1,3 mg</b>
<b>Vitamine D</b>	<b>2 IU</b>
<b>Vitamine B6</b>	<b>0,4 mg</b>
<b>Vitamine B<sub>12</sub></b>	<b>0,3 µg</b>
<b>Magnésium</b>	<b>23 mg</b>

### 5. Les pattes de poulet :

La transformation d'un animal vivant en une carcasse destinée à la consommation humaine produit à la fois des produits de haute qualité (viande) et des déchets provenant de l'abattoir.

Ces derniers engendrent une grande quantité de déchets qui nécessitent une gestion adéquate afin d'éviter les dommages à l'environnement et la perte de matières premières essentielles pour l'industrie de l'alimentation animale et en tant que ressources biologiques (**Brandelli et al., 2015**).

Les déchets animaux renferment des protéines structurelles insolubles et résistantes à la dégradation, telles que le collagène, l'élastine et la kératine (**Brandelli et al., 2015**).

Bien que les pattes de poulet soient souvent considérées comme des déchets, elles sont couramment utilisées dans la cuisine de diverses régions dans le monde. Ils sont appréciés pour leurs bienfaits pour la santé, principalement en raison de leur haute teneur en collagène. Les pieds de poulet sont principalement composés de tissu conjonctif, tels que la peau, le cartilage, les tendons et les os (**Figure 4**). Cependant, ils restent très nutritifs et fournissent une bonne quantité de vitamines et de minéraux. Environ 70 % de leur teneur totale en protéines est constituée de collagène, une protéine structurelle qui donne forme, force et résistance à la peau, aux tendons, aux muscles, aux os et aux ligaments. Les pattes de poulet sont également une bonne source de folate (vitamine B9). Leur teneur en matières grasses provient principalement de la peau, qui est généralement retirée avant la cuisson (**Natalie et al., 2020**).



**Figure 4** : Les pattes de poulet (**Web 04 , 2020**).

Mieux que de le jeter et de l'éliminer de différentes manières qui pourraient avoir un effet néfaste sur l'environnement, on peut considérer les pattes de poulet comme étant une matière première qui pénètre le champ des industries pharmaceutiques et cosmétiques. Le but de la valorisation est :

- Réduire les achats de matières premières.
- Réaliser des économies d'énergie en utilisant des matières premières recyclées.
- Eviter des frais élevés liés à l'élimination des déchets.

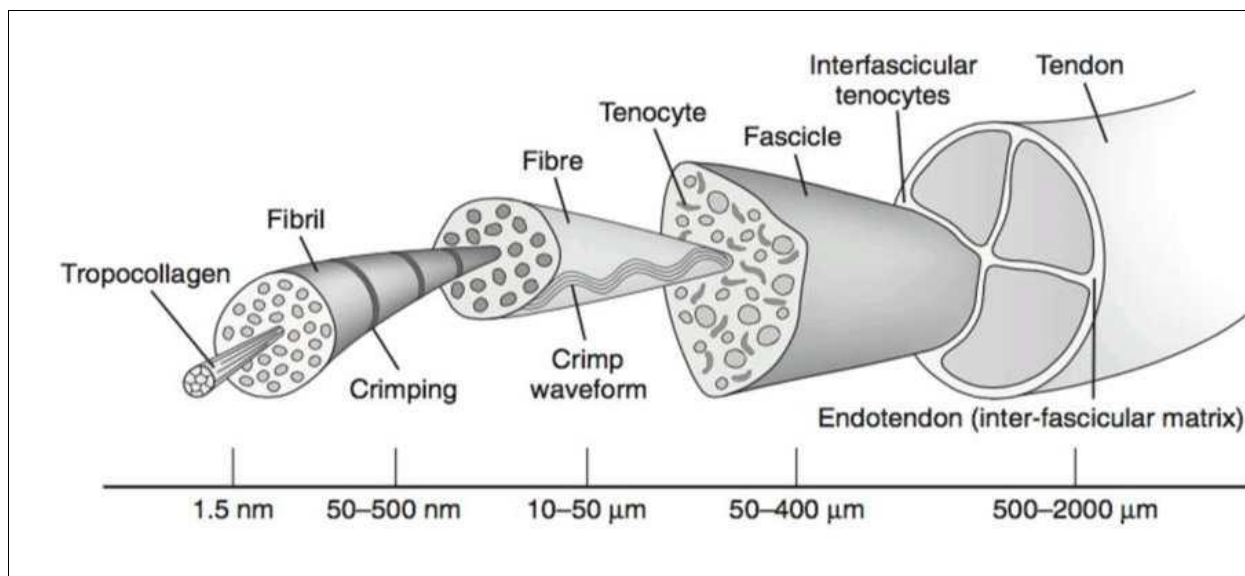
Dans les trois situations envisagées, il est possible de réaliser des économies financières **(Navarro et al., 1994)**

# *Chapitre 2*

## *Le collagène*

### 1. Définition du collagène :

Le collagène, la protéine la plus présente dans le corps humain, joue un rôle crucial dans l'organisation des tissus en formant des fibres visibles au microscope. (Shekhter et al., 2019). Composé de trois chaînes d'acides aminés, notamment le glycocolle, la proline et la lysine, le collagène assure la cohésion des tissus et la résistance mécanique du tissu conjonctif. Les fibroblastes, des cellules spécifiques, sont responsables de la synthèse du collagène et de son orientation appropriée, que ce soit de manière parallèle et dense pour augmenter la résistance, comme dans les tendons (**Figure 5**), ou de manière moins dense et entremêlée, comme dans les viscères. (Soroushanova et al., 2019).



**Figure 5 : La structure hiérarchique du tendon (Web 05)**

### 2. La super famille du collagène :

La famille des collagènes est composée de protéines avec une séquence peptidique spécifique, caractérisée par la répétition du triplet "Gly-X-Y", où X et Y sont des acides aminés aléatoires (**Tableau 2**). Ces protéines peuvent s'associer avec deux autres chaînes pour former une triple hélice. Il existe 56 protéines dans cette famille, mais seules 28 d'entre elles sont appelées collagène, car elles possèdent la séquence caractéristique (Gly-X-Y) et ont une fonction principalement structurale (**Perez et Bertoft, 2010**).

Les autres protéines de la superfamille ont été nommées en fonction de leur rôle biologique (voir tableau 1).

On distingue deux types de collagène : les collagènes fibrillaires et les collagènes non-fibrillaires. Comme leur nom l’indique, les collagènes fibrillaires sont capables de s’associer sous forme de fibrilles dans les conditions physiologiques. Ces fibrilles forment alors le réseau à l’origine des propriétés mécaniques et morphologiques des tissus (**Waigh et al., 2000**).

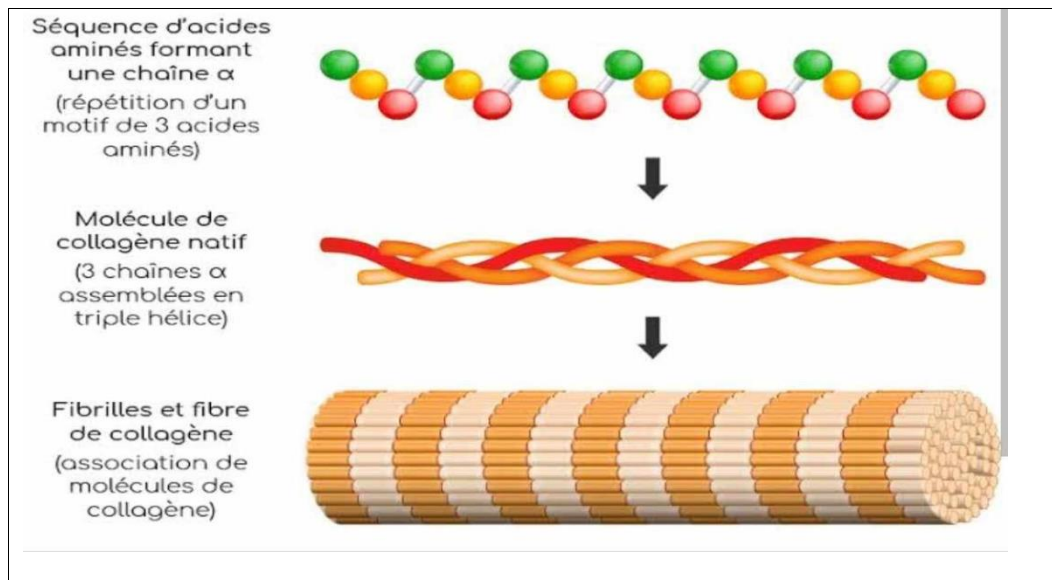
**Tableau 2 : Types de collagène chez les vertébrés (Fratzl, 2008).**

Sous-famille	Membres
Collagène fibrillaire	Types I, II, III, V, XI, XXIV, et XXVII
Collagène associé aux fibrilles	Types IX, XII, XIV ,XVI, XIX, XX, XXI, et XXII
Filament perlé -formant collagène	Types VI
Collagène associé à la membrane basale et protéine de type collagène	Type IV, VII, XV, et XVIII
Collagène à chaîne courte et protéines associées	Types VIII et X, lié à l’hibernation protéine HP-20, HP-25 et HP-27, élimine 1et 2; adiponectine ; CTRPs 1-7 : oreille interne (séculière ) collagène
Collagène transmembranaire et protéine	Types XIII,XVII,XXIII, XXV/CLAC-P; ectodysplasins; macrophage scavenger receptors I-III; MARCO; SRCL; CL-P1; gliomedin
Collectines et ficolines	Protéine liant ; proteins tensioactives A et D; conglutinin; CL43; CL-46; CL-L1; CL-P1; L-, M- et H-ficolines
Autres collagènes et proteins apparentées au collagène	Emu1; collagène XXVI/Emu2; collagène XXVIII; acetylcholinestérase sous- unité de queue

### 3. La structure du collagène :

La structure du collagène ou tropocollagène est celle d’un bâtonnet rigide mesurant environ 300 nanomètres de long, 1,4 nanomètre de diamètre et avec une masse moléculaire de 300000 daltons. Elle est constituée de trois chaînes polypeptidiques de 100000 daltons chacune (chaînes alpha) disposées en hélices gauches dont les axes sont enroulés en une superhélice droite autour d’un même axe central (**krane et al., 2008**) (**Figure 6**).

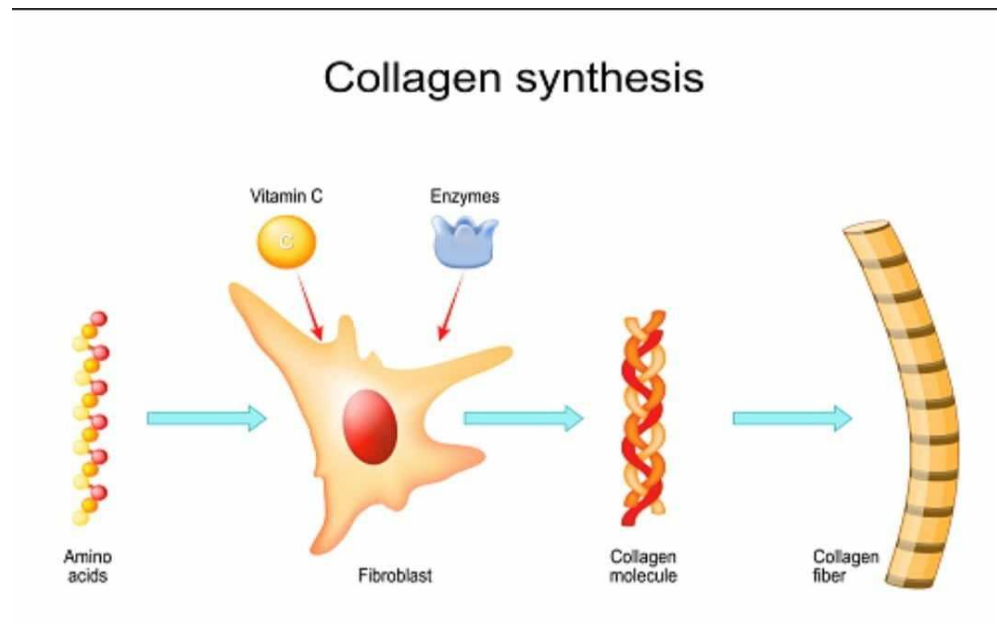
Les trois chaînes alpha s'entrelacent pour former une structure en triple hélice, également appelée triple hélice de tropocollagène. La triple hélice est stabilisée par des liaisons hydrogène. Le collagène est riche en acides aminés spécifiques, c'est-à-dire des acides aminés que l'on trouve que pour cette molécule, notamment la glycine, la proline et l'hydroxyproline, qui sont cruciaux pour sa structure unique (Krane et al., 2008).



**Figure 6 :** Structure du collagène (web 06)

#### 4. La formation du collagène : (Biosynthèse) :

La production du collagène se fait au sein des fibroblastes par synthèse cellulaire. Ces cellules sécrètent des précurseurs de collagène, appelés pro-collagène, dans l'espace entre les cellules. Les chaînes alpha du collagène commencent sous forme de pré-procollagène et subissent ensuite des modifications post-transcriptionnelles, incluant l'hydroxylation des résidus d'acides aminés proline et lysine. Ces chaînes alpha s'assemblent dans l'espace extracellulaire pour former la triple hélice de tropocollagène. Ensuite, les tropocollagènes subissent des processus de maturation et d'assemblage pour former des fibrilles de collagène (Lehninger, 1985) (Figure 7).



**Figure 7 : Synthèse du collagène (Web 07 )**

La chaîne alpha possède à ses extrémités des acides aminés supplémentaires : les propeptides (qui ne feront pas partie de la molécule de collagène). Ces derniers empêchent la juxtaposition des molécules les unes aux autres et donc la formation de fibrilles. Les chaînes alpha s'associent 3 par 3 et s'enroulent les unes sur les autres pour former une molécule hélicoïdale de procollagène. Ce dernier est excrété par la cellule conjonctive (le fibroblaste par exemple) et se retrouve dans la matrice extra-cellulaire. Les rallonges peptidiques sont alors éliminées par des peptidases et le procollagène devient le tropocollagène. Les molécules de tropocollagène s'associent pour former du collagène, cette association se fait toujours à l'extérieur de la cellule. Les molécules de collagène forment par la suite des fibres de dimensions très variées. Ces dernières sont relativement extensibles et donnent au tissu sa résistance et sa solidité (**Treistad, 1981**).

### **5. Les Propriétés du collagène :**

Le collagène est constitué d'environ 15% d'acides aminés ionisables. Il y a à peu près autant de résidus basiques (lysine, arginine, etc.) que de résidus acides (glutamate, aspartate). Du point de vue physico-chimique, le collagène est donc un polyélectrolyte amphotère : il peut agir à la fois comme un acide ou une base. Le calcul de la charge nette du collagène est donc assez complexe. Cela dépend de la force ionique, de la concentration en collagène, du pH, etc..(**Portier, 2016**)

## 6. Les différentes formes du collagène :

Le collagène, un ingrédient naturel, disponible en plusieurs formes :

**6.1. La gélatine :** est une protéine qui résulte de la dénaturation du collagène présent dans la peau et les os, suite à un long chauffage en milieu aqueux à l'autoclave. C'est une forme dégradée du collagène, obtenue par hydrolyse (**Kucinska et al. 2014**). (**Figure 9**). Elle conserve une certaine viscosité grâce à sa chaîne moléculaire relativement longue. Cependant, la gélatine est moins efficace que le collagène hydrolysé. C'est pourquoi les compléments alimentaires utilisent généralement des peptides de collagène pour prendre soin de la peau et des articulations. La principale différence entre le collagène et la gélatine réside dans le fait que la gélatine est obtenue par un processus chimique à base d'acide, ce qui la rend moins efficace que les peptides de collagène, mais la qualité du produit influence sa solubilité, son absorption et sa digestibilité (**Ichikawa et al., 2010**).

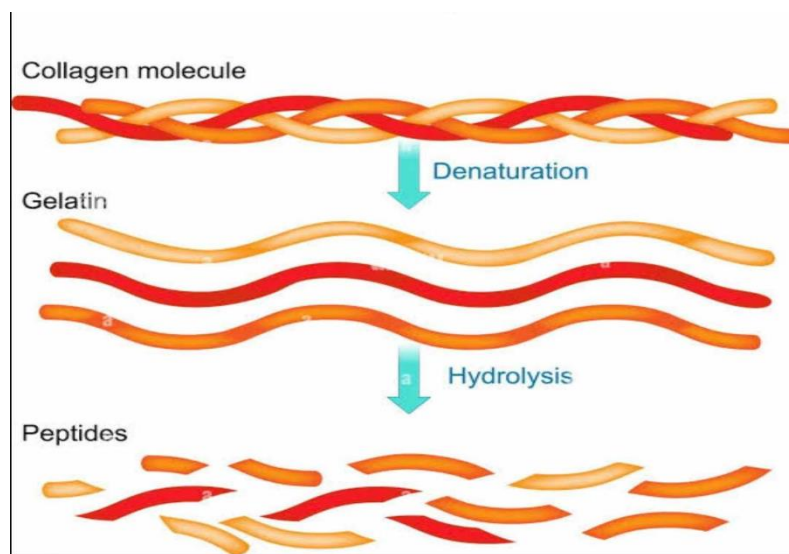


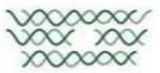


Figure 8 : hydrolyse et dénaturation du collagène en gélatine (Web 09).

**6.2. Collagène hydrolysé :** est une protéine nutritive fabriquée à partir de matières premières naturelles contenant une grande quantité de collagène, qui est produite par extraction et hydrolyse. Ce type de collagène est précieux dans les domaines de la médecine, de la santé et de l'alimentation (**Borumand et Sibilla, 2014**).

L'application du collagène non hydrolysé pour la fabrication de ces produits n'est pas facile en raison de sa tendance à s'agglutiner et de sa faible solubilité, en raison de sa grande taille

moléculaire (**Tableau 3**). Par conséquent, le collagène hydrolysé est une forme de collagène plus adaptée à une utilisation dans des produits commerciaux tels que les aliments, les compléments alimentaires, les cosmétiques et les médicaments. Le collagène hydrolysé est hautement soluble, digestible et facilement absorbé et transformé par le corps humain (**Watanabe-Kamiyama et al., 2010 ; Sibilla et al., 2015**).

**Tableau 3 : Les différentes formes de collagène utilisées (Web 08).**

Grade	Form	Molecular Weight	Solubility	Absorption and Digestibility	Application Examples
Native collagen		>300 kDa	Insoluble	None	Medical materials, collagen casings
Gelatine		60–300 kDa	Medium	Low	Gelatine desserts, confectionery
Hydrolysed collagen peptides		0.3-25 kDa	High	High	Dietary supplements, functional foods, cosmetics additive materials

## 7. Le rôle du collagène, *in vivo*, :

La plupart des tissus conjonctifs dépendent du collagène pour leur forme, leur structure et leur résistance mécanique, tels que la cornée, le tendon, la peau, le poumon, la paroi des vaisseaux sanguins et le cartilage. Le collagène est capable de former une grande variété d'assemblages hiérarchisés à partir d'une seule molécule, ce qui explique sa présence ubiquitaire dans le corps. ..(**Potier F. 2016**)

### 7.1. Les effets des peptides de collagène sur la santé :

#### ❖ La peau :

La peau est composée de 75% de collagène dans sa masse sèche. Les fibres de collagène jouent un rôle essentiel dans la structure de la peau, elles fournissent le support nécessaire à l'élastine, qui maintient l'élasticité de la peau, ainsi qu'à l'acide hyaluronique, qui assure son hydratation. Avec le vieillissement, le nombre et l'activité des cellules cutanées productrices de collagène diminuent. Le réseau de collagène qui donne à la peau sa structure et sa fermeté commence à se détériorer, ce qui entraîne une tendance à la sécheresse et à l'amincissement de la peau , Des études cliniques ont démontré que la consommation de peptides de collagène (Peptan) améliorerait la structure de la peau : la dégradation du collagène dans les couches

profondes de la peau était significativement réduite après seulement 4 semaines et avait diminué de 31% après 12 semaines. Pendant cette même période, la densité de la couche de collagène avait augmenté, renforçant ainsi la structure de la peau. De plus, le Peptan avait également augmenté l'hydratation de la peau de 28% après 8 semaines. Cette régénération de la peau est essentielle pour obtenir des effets anti-âge et donner à la peau une apparence plus jeune (Asserin, 2015).

❖ **Les os :**

Le collagène constitue environ 90% de la masse organique de l'os et forme un réseau souple auquel s'ajoute l'hydroxyapatite de calcium, qui confère aux os leur rigidité. En raison d'un processus continu de formation et de dégradation, environ 15% de la masse osseuse d'un adulte en bonne santé est renouvelée chaque année. Lorsque cet équilibre est perturbé et que la perte est plus rapide que la formation osseuse, la densité osseuse diminue et les os deviennent plus fragiles (Daneault et al., 2014). Des recherches scientifiques ont prouvé que les peptides de collagène (Peptan) ont un effet bénéfique sur la santé des os en favorisant leur renouvellement, en préservant leur densité minérale et en améliorant leur solidité et leur résistance (Guillerminet et al., 2012).

❖ **Les articulations :**

Les fibres de collagène constituent environ 70% de la masse sèche du cartilage et jouent un rôle essentiel dans sa structure et sa résistance. Le processus de vieillissement et la pratique de sports à fort impact contribuent à l'usure du cartilage. Cette usure peut entraîner une sensibilité, des douleurs ou une raideur articulaire, voire une immobilisation complète. Des recherches ont démontré que les peptides de collagène (Peptan) favorisent la production de cellules cartilagineuses qui produisent de l'agrécan et du collagène (Jiang et al., 2014).

**7.2. Autres effets du collagène :**

Le collagène est responsable de la structure des cheveux et des ongles. Lorsqu'il est consommé sous forme de peptides de collagène, les acides aminés sont absorbés et utilisés par les cellules du follicule pileux pour produire de la kératine. Les ongles des mains et des pieds sont également composés de kératine et reposent sur le tissu dermique appelé "lit de l'ongle" (Guillerminet et al., 2012).

- Pour optimiser la régénération musculaire après l'exercice, les sportifs doivent consommer suffisamment d'acides aminés pour favoriser la synthèse musculaire pendant la récupération. Un régime protéiné après l'effort peut améliorer la construction des muscles, compenser la perte de protéines, maintenir et restaurer les niveaux de protéines musculaires, et réduire le temps nécessaire à la récupération (Daneault et *al.*, 2014).

## 8. Les différentes applications du collagène :

Le Collagène et ses dérivés sont essentiels dans divers secteurs industriels en raison de ses caractéristiques uniques.

### 8.1. Dans l'industrie alimentaire :

Il joue le rôle d'un agent épaississant et améliore la consistance et la qualité des produits. Il est un ingrédient essentiel dans les gelées, les confitures, ainsi que dans les saucisses et les salaisons, où il améliore la texture et la teneur en humidité des produits

(Lafarga et hayes, 2014) (Figure 10).



Figure 9 : Poudre de collagène (Anonyme 2021) (Web 10)

### 8.2. En cosmétique :

Étant donné que de nombreuses personnes souhaitent préserver leur jeunesse le plus longtemps possible, il a été décidé d'exploiter les propriétés du collagène dans l'industrie cosmétique. Il est principalement utilisé pour créer des crèmes, des masques et des gels. Bien que le collagène ne soit pas absorbé par la peau, il a été prouvé qu'il forme un film hydrophile sur la peau, ce qui prévient la perte d'eau. Cela permet de ralentir le processus de

vieillesse cutané et de protéger la peau des facteurs externes, le collagène est aussi présent dans de nombreux produits de soins capillaires pour les cheveux, comme les masques et les après-shampoings. Ces produits ont la capacité de régénérer les cheveux, de réduire les risques de casse et d'augmenter l'hydratation des cheveux (**Asserin, 2015**).

### **8.3. Application médical:**

L'inhibition du vieillissement de la peau, rendue possible par le collagène, est utilisée non seulement dans le domaine de la cosmétique, mais aussi en médecine esthétique. Le collagène est principalement utilisé comme un produit de comblement qui, lorsqu'il est injecté sous la peau, réduit les rides, améliore la fermeté de la peau et stimule la production de cette protéine par la peau. De plus, lorsqu'il est appliqué au tissu sous-cutané, il est possible d'obtenir une réduction localisée de la graisse ou une diminution de la cellulite. Le collagène est également employé dans le domaine de la médecine sportive. Toute lésion musculaire ou tendineuse peut être réparée de manière naturelle grâce à des injections de collagène (**Lin, K. et al 2019**)

Le Collagène est aussi employé dans la production d'implants, la fabrication de membranes protectrices pour la régénération des tissus et des os, ainsi que pour refermer les jonctions oro-orbitales après une extraction dentaire. Il est également utilisé dans les systèmes d'administration de médicaments (DDS). Les biomatériaux à base de Collagène peuvent également être bénéfiques dans le traitement des blessures de la cornée

(**Glowacki et Mizuno 2008**)

### **8.4. Autres applications :**

Sa nature protéique lui confère de larges domaines d'utilisation.

- Il est utilisé dans la fabrication des compléments alimentaires en raison de son effet positif sur la santé du cartilage (**Kim et Mendis 2006**)
- Avec le développement de l'industrie pharmaceutique, le collagène est devenu utilisé comme matière première pour la fabrication de capsules médicamenteuses facilement soluble (**Gomez.G et al 2011**)

### **9. le marché de collagène dans le monde :**

La taille du marché du collagène est estimée à 1,32 milliard de dollars en 2024 (USD) et devrait augmenter à 1,78 milliard de dollars d'ici 2029, avec une croissance prévue de 6,16 % sur la période de prévision (2024-2029) (**Web 08**)

Les ventes dans le domaine des soins personnels et des cosmétiques devraient augmenter pendant la période prévue en raison de la demande croissante des consommateurs pour les produits de beauté contenant du collagène.

En 2022, la région Asie-Pacifique (Chine et en Inde) dominait le marché en raison de l'augmentation de la demande pour les produits à base de collagène et de la présence importante de nombreuses usines de fabrication.

L'Europe représente la deuxième partie régionale du marché et devrait également connaître le taux de croissance annuel composé (TCAC) le plus élevé, estimé à 6,48%.

Le Moyen-Orient et l'Afrique offrent un marché prometteur, car la majorité des consommateurs suivent les principes de l'islam, ce qui crée des opportunités pour les acteurs du marché de la région de fournir du collagène provenant de sources HALAL. Avec l'introduction et la mise en place de politiques basées sur la religion, la demande devrait augmenter, principalement pour permettre une utilisation plus flexible des produits à base de collagène (**Web 08**)

# **Partie Expérimental**

# **Matériel et méthodes**

Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire de Biochimie, Département des Sciences de la Nature et de la Vie, Faculté des sciences, Université 20 août 1955-skikda, sur une période de 3 mois, allant du mois de Mars jusqu'au mois de Mai.

L'objectif de cette étude est la valorisation d'un déchet de l'abattoir, il s'agit des pattes de poulets en optimisant la méthode d'extraction du collagène à partir de ces derniers. Les caractéristiques physico-chimiques ainsi que bactériologiques du collagène obtenu ont été déterminés.

### **1. Matériel biologique :**

Nous avons choisi de travailler sur un déchet de la production aviaire, il s'agit des pattes de poulet. Des pattes de volailles ont été obtenues auprès du Complexe Avicole Al Sharq, Unité Hammadi Karouma, SKIKDA.

#### **1.1. Préparation des échantillons :**

- Les pattes de volailles ont été nettoyées avec de l'eau du robinet et débarrassées de toutes impuretés.
- Les ongles ont été retirés manuellement.
- Ensuite, Les pattes ont été coupées en de petits morceaux (1 à 1.5 cm).
- Les échantillons ont été placés dans des boites en plastiques puis conservés au réfrigérateur jusqu'à leur utilisation (**Figure10**).



**Figure 10 :** Les pattes de poulet conservées (**Prise personnelle**).

## **2. Méthodes :**

Le but de notre travail est de proposer une méthode d'extraction optimisée qui nous permet d'avoir un maximum de rendement et l'obtention d'un collagène d'une très bonne qualité.

Pour cela, nous avons testé plusieurs protocoles, où, on a modifié les différents paramètres, à savoir, la température, le Ph et le temps.

Au final on a opté pour le protocole suivant :

### **2.1. Le protocole d'extraction :**

L'extraction du collagène implique deux étapes clés : le prétraitement du matériau brut; et extraction du collagène. L'extraction a été réalisée selon Sukkwai et *al.*, (2011) ; Liu et *al.*, (2015) et Suparno et Prasetyo, (2019), avec modifications (**Figure 11**).

L'objectif principal du prétraitement des déchets avant l'extraction du collagène est d'éliminer les impuretés afin d'améliorer la qualité du collagène obtenu. Avant le prétraitement des matières premières, différents sous-produits étaient séparés en différents groupes tels que la peau, les os, la vessie natatoire et les écailles. Cela facilite le nettoyage, l'élimination des contaminants et la réduction de la taille. La plupart du temps, les matières premières utilisées pour l'extraction contiennent des lipides, des pigments, des protéines non collagènes et des graisses.

#### **2.1.1. Prétraitement des pattes de poulet avec une solution NaOH :**

La première étape est le pré-traitement des pattes coupées par une solution basique NaOH dans le but d'éliminer les protéines non collagènes et autres impuretés tels que les acides gras, les minéraux, les pigments et les odeurs. Le NaOH est utilisé à une concentration de 0,5 ; 1 et 2 M (1 :10 b/v), avec un temps d'exposition de 2,4 6et 8h. Après chaque deux heures on remplace la solution NaOH.

#### **2.1.2. Hydrolyse des pattes de poulet avec l'acide acétique (CH<sub>3</sub>COOH) :**

La deuxième étape est une hydrolyse avec une solution d'acide acétique (CH<sub>3</sub>COOH) pour modifier la structure des fibres de collagène afin de faciliter le processus d'extraction. Les concentrations d'acide acétique utilisées étaient de 0,1, 0,3 et 0,5 M avec des temps de trempage de 1, 2 et 3 heures. Le rapport entre les pattes de poulet et la solution d'acide acétique était de 1:10 (b/v). Les échantillons ont été lavés à l'eau distillée jusqu'à neutralité.

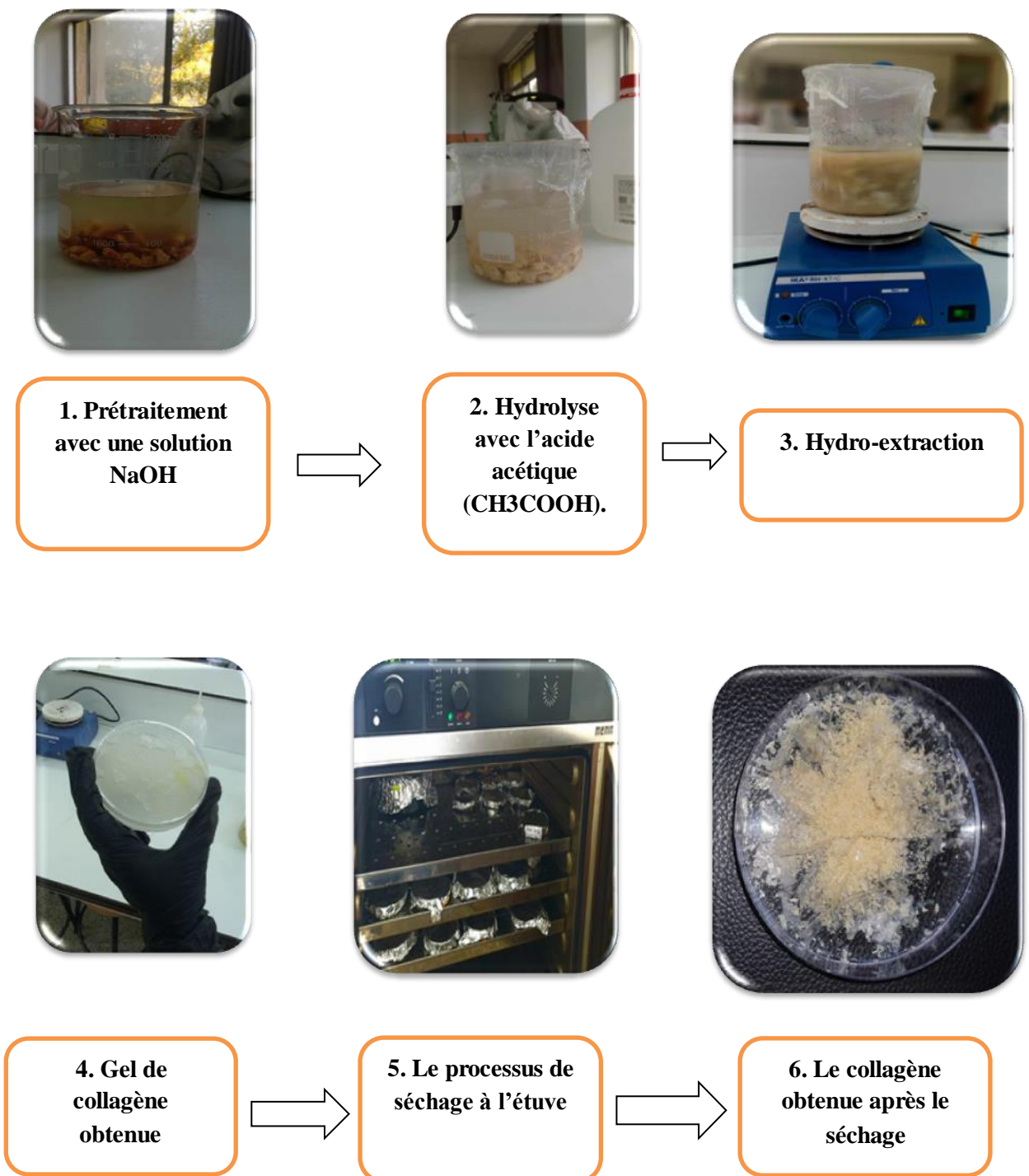
**2.1.3. Hydro-extraction :**

La troisième étape est l'hydro-extraction. L'extraction a été réalisée à 40°C pendant 2 h à l'aide d'un agitateur à bain-marie, à une vitesse de 150 tours/min. Le rapport entre les pattes de poulet et l'eau distillée était de 1:2 (b/v). Le résultat de l'extraction est l'obtention d'une solution de collagène.

**2.1.4. Le séchage :**

La solution de collagène a été séchée à l'étuve (lyophilisateur si disponible) et le rendement est calculé selon la relation suivante :

$$\mathbf{R \% = m (exp) / m (max) * 100}$$



**Figure 11** : Les étapes d'extraction du collagène (**Prise personnelle**)

## **2.2. Caractérisation physico-chimique et bactériologique du collagène extrait :**

### **2.2.1. Caractéristiques physico-chimiques du collagène :**

L'évaluation de la stabilité et de la consistance du produit en termes de qualités nutritionnelles et sensorielles est réalisée à travers le contrôle physico-chimique, qui inclut différentes analyses telles que :

#### **2.2.1.1. Le Dosage des protéines :**

Le dosage des protéines, autrement dit le collagène a été réalisé par La méthode de Bradford, (**Bradford, 1976**). C'est une méthode colorimétrique qui permet de doser la concentration protéique d'un échantillon. Cette méthode est basée sur l'adsorption d'un colorant qui est le bleu de Coomassie G250, qui se lie à des molécules de protéines à pH acide selon deux façons. Le groupe de triphénylméthane se lie aux résidus hydrophobes des acides aminés alors que les groupes sulfonâtes anioniques interagissent avec les chaînes latérales cationiques des protéines (les chaînes latérales de l'arginine, de la lysine et de l'histidine). Ceci entraîne la formation d'un complexe chromogène présentant un maximum d'absorption à 595nm. Il existe une corrélation entre la quantité de colorant formé dans une solution et la concentration en protéine.

##### **a. Préparation de la gamme étalon :**

La première étape de cette méthode consiste en la réalisation d'une gamme étalon à partir de quelques tubes de concentrations connues. On utilise généralement de la BSA (Bovine Sérum Albumine) comme protéine standard. Cette gamme permet d'établir une courbe d'étalonnage de la concentration en fonction de l'absorbance mesurée. Les concentrations utilisées pour cette gamme doivent être comprises dans la zone linéaire du colorant utilisé : ici entre 0.1 à 1.4mg/ml. Une fois les points correspondant à la gamme positionnés sur le plan on les relie par une droite approximant la linéarité de la courbe théorique. Pour se faire, plusieurs réactifs ont été préparés notamment le réactif de Bradford et la solution Stock de BSA (Bovine sérum albumine).

##### **b. Préparation des échantillons**

Nous avons disposé les échantillons comme suit :

Tube 01 : 180 ul de Réactif de Bradford + 20 ul de la solution d'échantillon.

Tube 02 : 180 ul de Réactif Bradford + 20 ul de l'eau distillée.

##### **c. Mesure de l'absorbance (dosage du collagène) :**

La mesure de l'absorbance a été réalisée avec le spectrophotomètre.

L'absorbance de tous les tubes est mesurée à une longueur d'onde de 595nm. Les valeurs obtenues à partir des tubes de la gamme étalon permettent de tracer une droite étalon: absorbance= f (concentration).

Cette proportionnalité permet de déterminer la quantité de protéine contenue dans un volume de prise d'essai de l'échantillon à doser.

Les échantillons sont préalablement mis en incubation à l'obscurité pendant 30 minutes.

Avant de mesurer l'absorbance afin que l'équilibre de fixation Protéinecolorant s'établisse. Le pigment forme alors un complexe avec les protéines, sa structure est modifiée par cette interaction et sa longueur d'onde d'absorbance maximale est déplacée de 465 à 595nm.

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel Minitab.

Enfin, nous complétons les calculs pour obtenir la concentration en protéines.

#### **2.2.1.2. Caractérisation microbiologique :**

L'examen microbiologique est essentiel pour évaluer le degré de contamination des aliments ainsi que la composition de leur flore microbienne. Le personnel du laboratoire du contrôle de qualité de la Wilaya de Skikda nous a proposé la recherche de la flore aérobie totale mésophile selon les normes proposées par le journal officiel de la République Algérienne et qui est considérée comme étant un indicateur sanitaire.

##### **❖ Protocole :**

La flore mésophile aérobie totale regroupe tous les micro-organismes capables de se développer en présence d'oxygène et à des températures moyennes, plus spécifiquement ceux dont la température idéale de croissance est de 37°C. Parmi eux, on peut trouver des micro-organismes pathogènes ou responsables de la détérioration ou l'altération (**Bougeois et Leveau, 1996**).

**- Préparation de la dilution mère :** introduire aseptiquement dans un flacon stérile en verre 180ml de la solution TSE, avec 20g de l'échantillon (collagène).

**- Préparation des dilutions décimales :** introduire aseptiquement à l'aide d'une micropipette 1ml de la dilution mère dans un tube stérile contenant au préalable 9ml du diluant (eau physiologique), on obtient donc la dilution ( $10^{-1}$ ). Répétez l'opération jusqu'à obtention de la dilution  $10^{-4}$ .

- **La recherche des germes aérobies** : 1 ml de chaque dilution est prélevé etensemencé dans une boîte de Petri contenant le milieu PCA.

Le test est répété trois fois (03) et un témoin est également prévu (boîte contenant du PCA uniquement).

Les boîtes sont ensuite incubées à 37°C pendant 72 heures.

# **Résultats et discussions**

La notion de déchet est subjective. Un déchet est un résidu que les hommes jugent inutile dans un contexte donné. Parmi ces derniers, on trouve en premier lieu les déchets des abattoirs. Ils correspondent à des parties prélevées sur des animaux en bonne santé et destinées à être consommées par les humains, mais qui ne sont pas utilisées directement pour l'alimentation. Les déchets animaux renferment des protéines structurales insolubles et résistantes à la dégradation, telles que le collagène, l'élastine et la kératine, qui sont les principaux composants des os, des organes et des tissus durs. Ces résidus peuvent être extraits et hydrolysés pour être utilisés comme nourriture pour les animaux ou comme ingrédients fonctionnels intéressant l'industrie (**Brandelli et al., 2015**).

Dans notre travail, nous avons ciblé les pattes de poulets dans le but d'extraire un collagène de bonne qualité et en quantité adéquate, et offrir ainsi au marché national un collagène Halal qui remplace le collagène bovin et porcine peu appréciés par certaines populations.

En premier lieu nous avons procédé à une optimisation du protocole d'extraction après avoir consulté et testé plusieurs paramètres. Par la suite nous avons pu doser les protéines du collagène et valiser sa qualité microbiologique permettant ainsi une utilisation saine.

### **1. Extraction du collagène et calcul du rendement :**

Après avoir testé plusieurs paramètres d'extraction nous avons pu déterminer les paramètres optimaux d'extraction de collagène. On a pu retenir une concentration d'NaOH de 0,5M avec une agitation pendant 6h en remplaçant chaque 2h cette dernière. La concentration de l'acide acétique est également de 0,5M accompagné d'une agitation pendant 2h avec une vitesse de 150 tours/min avec une température de 45°C.

Plusieurs études on pu montré que ces paramètres sont les meilleurs afin d'avoir un bon rendement d'extraction. Parmi ces études, on peut citer **Suparno et Prasetyo, (2019)** qui ont prouvé que si on va au-delà de ces valeurs, le collagène est dénaturé.

Le rendement ainsi que les caractères physico-chimiques du collagène dépendent principalement des conditions d'extraction (type de traitement, concentration, pH, température et temps), et de l'origine de la matière première (l'espèce et le type du tissu utilisé).

Les résultats du rendement sont mentionnés dans le tableau ...

**Tableau 04 :** Résultats du rendement en collagène.

Echantillons	Collagène extrait
100 g	9% ( 9g)

**2. Dosages des protéines :**

En fonction de la courbe d'étalonnage de la protéine ABS (connue), nous pouvons extraire et déterminer les valeurs suivantes :

Courbe d'étalonnage :  $Y=0,007 X + 0,0582$

La longueur d'onde  $\lambda= 595$  nm

Les résultats obtenus sont montrés dans le tableau .. .

**Tableau 05 :** Dosage des protéines (collagène) par la technique de Bradford.

	<b>Absorbance</b>	<b>Concentration</b>
Echantillon + Réactif	1,082	153,82
L'eau + Réactif	0,338	47,4542
Soustraction	0,744	106,3658
Extrapolation	/	979,71 ug/ ml
X la dilution	/	9797,14 ug/ml

Le résultat montre que la concentration en protéines dans l'échantillon est plutôt acceptable. Le pourcentage obtenu est proportionnel à la méthode d'extraction, qui n'est pas très coûteuse.

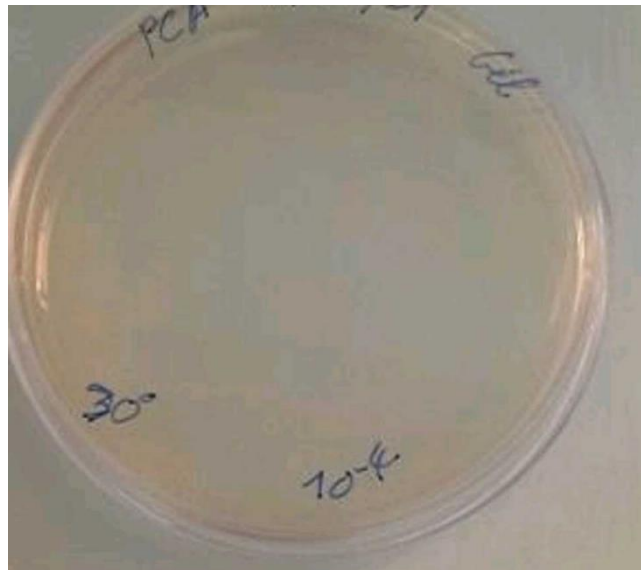
**3. Caractérisation microbiologique :**

Les résultats de la recherche de la flore totale aérobie mésophile montrent qu'aucune croissance n'a été observée sur les boîtesensemencées (**Tableau 06**), (**Figure 12**). Ce résultat met en évidence l'absence du danger lié à l'utilisation de ce collagène extrait. On peut l'expliquer par la nature des solutions utilisées lors du protocole d'extraction, NaOH et l'acide acétique.

**Tableau 06:** Résultat de la recherche de la flore totale aérobie mésophile.

Echantillon Germe Recherché	JO N°39/2017	Référentiels
Germe aérobie à 30° en Ufc/g	>1000	NF08-051

Ufc/g : unité formant colonie/g.



**Figure 12 :** Résultat de la recherche de la flore totale aérobie mésophile (Prise personnelle).

# **Conclusion et perspectives**

Le collagène est une protéine essentielle pour bon fonctionnement du corps humain et constitue la plus grande partie des protéines présentes. À mesure que nous vieillissons, la quantité de collagène diminue, ce qui nous pousse à la consommation des compléments alimentaires à base de ce dernier, l'utilisation des crèmes et autres produits qui le contiennent afin de compenser cette perte.

Le collagène est généralement extrait d'animaux tels que le porc, et les bovins ou encore le poulet, ou bien à partir de sources marines plus coûteuses. C'est pourquoi le consommateur musulman cherche toujours des sources de collagène halal et abordables.

L'objectif de ce travail était d'optimiser les conditions d'extraction de collagène à partir des pattes de poulet et de déterminer ces caractéristiques physico-chimiques et bactériologiques.

Après plusieurs tests on a fini par définir les paramètres adéquats pour avoir un maximum de rendement avec un collagène de bonne qualité. Avec une concentration de NaOH de 0,5 M et un temps d'exposition de 6 h, une concentration d'acide acétique de 0,5M également et un temps d'exposition de 2h avec une agitation de 150 tours/min à 45°C, un rendement de 9% a été obtenu. Le dosage des protéines par la méthode de Bradford montre la présence de protéine notamment le collagène. L'analyse microbiologique est satisfaisante avec l'absence de la flore totale aérobie mésophile.

### **Perspectives :**

- Le collagène extrait nécessite d'autres caractérisations afin de mettre en évidence sa qualité en tant que produit de base pour la fabrication de biens d'autres produits dans différentes industries.
- Proposer notre produit aux industriels en tant que matière première.
- Proposer des produits à base de collagène telle qu'une crème hydratante, un sérum pour les cheveux ...

# **Références bibliographiques**

1. Afak science journal p/363. Titre de l'article : Les entraves au développement de la filière avicole en Algérie
2. Anonyme (2003). Guide de classification des sous-produits animaux et leurs devenir (pp. 15-52)
3. Asserin, J, Elian Lati, Toshiaki Shioya , Janne Prawitt, 2015. The effect of oral collagen peptide supplementation on skin and the dermal collagen , Journal of Cosmetic Dermatology, doi: 10.1111/jocd.12174
4. Borumand, M., & Sibilla, S. (2014). Daily consumption of the collagen supplement Pure Gold Collagen(®) reduces visible signs of aging. *Clinical Interventions in Aging*, 9, 1747–1758. doi: 10.2147/CIA.S65939
5. Brandelli et Luisa Sala ,Susana Juliano Kalil, 2015. Microbial enzymes for bioconversion of poultry waste into added-value products. *Food Research International*, 73.
6. COMTE PR., HUC A., HERBAGE D., ROUVEIX B Collagène structure cicatrisant, extraction et propriétés tes antihémorragiques revue de l'ADPHSO 1986:
7. Constance Maria, 2016. Article : "Coproduits et cadavres d'animaux : une industrie parallèle".
8. Daneault, A. et al., 2014, Hydrolyzed collagen contributes to osteoblast differentiation in vitro and subsequent bone health in vivo. *Osteoarthritis and Cartilage* 22: S131
9. Daneault, A. et Coxam.V ,Wittrant. Y, 2015. Biological effect of hydrolyzed collagen on bone metabolism. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 10: 1040-8398
10. Dusart L., 2015. Quelques rappels sur les mécanismes physiologiques. *Alimentation des volailles en agriculture biologique*. Ed. ITAVI.
11. 10. FRANÇOIS Portier. Biomateriaux collagène / gélatine: des phases cristal-liquides aux matériaux hybrides. *Matériaux*. Université Pierre et Marie Curie- Paris VI, 2016. Français. NNT: 2016PA066655. tel-01585249
12. 11. FRATZL P. Collagen: Structure and Mechanics, an Introduction. In: FRATZL P. (dir.). *Collagen – Structure and Mechanics*. New York: Springer US, 2008, chapitre 1, p. 1-13. ISBN: 978-0-387-73905-2)
13. Glowacki, J.; Mizuno, S. Collagen scaffolds for tissue engineering. *Biopolymers* 2008, 89, 338-344, <https://doi.org/10.1002/bip.20871>.
14. GOBEAUX F. Phases denses de collagène de type I : Transition isotrope/cholestérique, fibrillogenèse et minéralisation. Thèse de doctorat : Biophysique Moléculaire. Paris, Université Pierre et Marie Curie : 2007.
15. Gómez-Estaca J., Montero P., Fernández-Mantín F., Gómez-Guillén M.C., (2009). Physico-chemical and film-forming properties of bovine-hide and tuna-skin gelatin: A comparative study. *J. Food Eng.* 90:480-486.
16. Gómez-Guillén, M.C., Giménez, B., López-Caballero, M.A. and Montero, M.P. 2011. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. *Food Hydrocolloids* 25(8): 1813-1827.
17. Guillerminet, F. Beaupied.H, Fabien-Soulé.V, Tomé.D , Benhamou.C , Roux.C,Blais.A, 2010, Collagen Peptides Improves Bone Metabolism and

- Biomechanical Parameters in Ovariectomized Mice: An In-Vitro and In Vivo study, Bone 46: 827-834
18. Guillerminet, F. Guillerminet, F., Fabien-Soulé, V., Even, P.C., Tomé, D., Benhamou, C.-L., Roux, C., Blais, A., 2012, Hydrolyzed collagen improves bone status and prevents bone loss in ovariectomized C3H/HeN mice. *Osteoporosis International* 23 (7): 1909-1919
  19. Huda N., Seow E.K., Normawati M.N., Nik Aisyah N.M., (2013). Preliminary study on physicochemical properties of duck feet collagen. *Int. J. Poult. Sci.* 12: 615-621.
  20. HULMES D.J.S. Collagen Diversity, Synthesis and Assembly. In : FRATZL P. (dir.). *Collagen – Structure and Mechanics*. New York : Springer US, 2008, chapitre 2, p. 15-47. ISBN : 978-0-387-73905-2.
  21. ICHIKAWA, S., Morifuji, M., Ohara, H., Matsumoto, H., Takeuchi, Y., Sato, K., 2010 Hydroxyproline-containing dipeptides and tripeptides quantified at high concentration in human blood after oral administration of gelatine hydrolysate. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 52\_ 60.
  22. IZQUIERDO E. Caractérisation des effets de la chaleur sur des cuirs de tannage végétal et développement d'une stratégie de restauration par voie enzymatique. Thèse de doctorat : Science de la vie et de la santé, spécialité Biochimie. Université de Cergy-Pontoise : 2016.
  23. Kaci A., 2007. La production avicole en Algérie : opportunités et contraintes. Forum international vétérinaire les 13, 14, 15 mai 2007. ENV. El Harrach. 15p.
  24. Kim, S.E. and Mendis, E. 2006. Bioactive compounds from marine processing byproducts – a review. *Food Research International* 39(4): 383-393
  25. Krane, S. M. The importance of proline residues in the structure, stability and susceptibility to proteolytic degradation of collagens. *Amino acids* 2008, 35(4), 703.
  26. Kucinska-Lipka, J., Gubanska, I., & Janik, H. (2014). Polyurethanes modified with natural polymers for medical application. Part II. Polyurethane/gelatin, polyurethane/starch, polyurethane/cellulose. *Polimery*, 59(3), 197-200
  27. Lafarga, T. and Hayes, M. 2014. Bioactive peptides from meat muscle and by-products: generation,
  28. LEHNINGER A. Principes de biochimie Paris Flammarion 1985.
  29. Lentz K.A. Current Methods for Predicting Human Food Effect - Mini-Review. *AAPS J.* 2008;10:282–288.
  30. Lin, K.; Zhang, D.; Macedo, M.H.; Cui, W.; Sarmiento, B.; Shen, G. Advanced Collagen-Based Biomaterials for regenerative Biomedicine. <https://doi.org/10.1002/adfm.201804943>. *Advanced Functional Materials* 2019, 29,
  31. Medically reviewed by Natalie Butler, R.D., L.D. — By Ariane Lang, BSc, MBA on October 19, 2020
  32. Narenji A.G., Petite J.N., & Mozdziak P.E. (2020). Transgenic chicken/poultry birds: serving us for survival / Chapter 9. *Genomics and Biotechnological Advances in Veterinary, Poultry, and Fisheries*. P211-221.

33. National institutes of health (NIH), A Review of gelatin source.
34. OFAL 2001 « Rapport sur les filières et marchés des produits avicoles en Algérie 373"»
35. Pascale MAGDELAINE, membre de l'Académie d'Agriculture de France / (février 2021)
36. Perez S., Bertoft E. The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: a comprehensive review. *Starch*, 2010, vol 62, p 389-420. DOI: 10.1002/star.201000013.
37. Santana JCC, Gardim RB, Almeida P.F, Borini GB, Quispe ABP, Llanos SAV, Heredia JA, Zamuner S, Gamarra FMC, Farias TMB, Ho LL, Berssaneti FT, (2020). Valorization of Chicken Feet By-Product of the Poultry Industry: High Qualities of Gelatin and Biofilm from Extraction of Collagen. *Polymers (Basel)*. 12(3): 529.
38. Schrieber, R., & Gareis, H. (2007). *Gelatine Handbook: Theory and Industrial Practice*. Wiley-VCH.
39. Sibilla, S., Godfrey, M., Brewer, S., Budh-Raja, A., & Genovese, L. (2015). An overview of the beneficial effects of hydrolysed collagen as a nutraceutical on skin properties: Scientific background and clinical studies. *The Open Nutraceuticals Journal*, 8. doi: 10.2174/1876396001508010029
40. WAIGH T.A., PERRY P., RIEKEL C., GIDLEY M.J., DONALD A.M. Chiral side-chain liquid-crystalline polymeric properties of starch. *Plant physiology*, 2000, vol 122, p 989-997. DOI: 10.1104/pp.122.4.989
41. Widyaninggar.A , Triwahyudi, Triyana.K, Rohman.A, (2012) Differentiation Between Porcine And Bovine Gelatin In Capsule Shells Based On Amino Acid Profiles And Principal Component Analysis . *Indonesian J. Pharm.* Vol. 23 No. 2 : 104 – 109 Issn-P : 0126-1037 .
42. Zhang et al., 2020. (*Trends in Food Science & Technology*)
43. Zhang, Z. K., Li, G. Y., & L. Shi, B. (2006). Physicochemical properties of collagen, gelatin and collagen hydrolysate derived from bovine limed split wastes. 90.

### Webographie :

Web 01 : <https://www.itavi.asso.fr/publications/note-de-conjoncture-volailles-de-chair-avril-2020/download>

Web 02 : <https://ourworldindata.org/meat-production#global-meat-production>

<https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/171450/nutrients>

Web 03 : <https://images.app.goo.gl/g7Bw3CK5zsRB7pCu8>

Web 04 : <https://images.app.goo.gl/iEJyrUhiqwxdXihd8>

Web 05 : Tendon anatomy. In : Physiopédia (en ligne). Consulté le 11/09/16. Disponible à l'adresse : [http://www.physio-pedia.com/Tendon\\_Anatomy](http://www.physio-pedia.com/Tendon_Anatomy)

Web 06 : <https://images.app.goo.gl/t43cr5oG4A1EqBvs7>

Web 07 : <https://images.app.goo.gl/JCbWX3NTdYxTvfs36>

Web 08 : Published study by Rousselot SAS, French hydrolysed collagen manufacturer, 2019.

Web 09 : <https://images.app.goo.gl/6mp5jWUXdsq5N91S9>

Web 10 : <https://images.app.goo.gl/8Z38Wwnwz9mSD9fGA>