

Taux des lipides et des protéines et composition en acides gras du tissu comestible des crustacés et des mollusques pêchés en Algérie : Effet du halofénozide (RH-0345) sur la composition en acides gras de *Penaeus kerathurus* (Crustacé, Décapode).

Samira Gheid¹, Safia Nadji² et Mohamed El Hadi Khebbeb³

¹⁾ Département de Biologie, Université de Tébessa, Algérie.

²⁾ Département de Biologie, Université de Biskra, Algérie.

³⁾ Laboratoire de Biologie Animale Appliquée, Département de biologie, Faculté des sciences, Université d'Annaba, 23000, Annaba, Algérie.

Accepté le 28/07/2010

ملخص

هذا العمل يتناول دراسة بروتينات والليبيدات الغير مشبعة للقشريات و الرخويات. وتقييم التأثيرات الثانوية لمركب غير ستيريويدي منافس للاكديستيريويديات الهالوفينوزيد على أحماض دهنية لنوع من القشريات. من خلاله قمنا بتحديد البروتينات و الليبيدات و الأحماض الدهنية المكونة لعضلة ثلاثة أنواع من الرخويات ذوي الصدفتين (*Cardium glaucum*, *Ruditapes decussatus*, *Mytilus galloprovincialis*) و إلى لحم ثلاثة أنواع من القشريات عشرية الأرجل (*Penaeus kerathurus*, *Aristeus antennatus*, *Parapenaeus longirostris*). إضافة إلى ذلك درسنا التأثيرات الثانوية ل RH-0345 على الأحماض الدهنية للحم *Penaeus kerathurus*. عند الرخويات قيمة الليبيدات و البروتينات ليس لها تغير معنوي (بروتينات من 9 إلى 11 mg/μg للنسيج, ليبيدات من 8 إلى 9 mg/μg للنسيج), بينما قيمة البروتينات عند القشريات مهمة بالنسبة لليبيدات (بروتينات من 7 إلى 11 mg/μg للحم, ليبيدات من 1.8 إلى 3 mg/μg للحم), وكمية الأحماض الدهنية الغير مشبعة والأحماض الدهنية المتعددة الغير مشبعة مرتفعة (20% من الأحماض الدهنية الكلية). معالجة *Penaeus kerathurus* بجرعة RH-0345 قيمتها 3.14 μg/l يؤدي إلى انخفاض معنوي في قيمة الأحماض الدهنية الأحادية الغير مشبعة وإلى ارتفاع الأحماض الدهنية المشبعة.

الكلمات المفتاحية: قشريات؛ رخويات؛ الهالوفينوزيد؛ بروتينات؛ ليبيدات؛ أحماض الدهنية.

Résumé

Ce travail porte sur la valorisation de l'apport en protéines et en lipides insaturés des crustacés et des mollusques et sur l'évaluation des éventuels effets secondaires d'un agoniste non stéroïdal des ecdystéroïdes, le halofénozide (RH-0345) sur la composition en acides gras d'un crustacé. La composition en protéines, en lipides et celle en acides gras du muscle de 3 espèces de mollusques bivalves (*Cardium glaucum*, *Ruditapes decussatus* et *Mytilus galloprovincialis*) et de la chair de 3 crustacés Péneidés (*Penaeus kerathurus*, *Aristeus antennatus* et *Parapenaeus longirostris*) sont déterminées. Nous avons également évalué les effets secondaires du RH-0345 sur la composition en acides gras des lipides totaux de la chair de *Penaeus kerathurus*. Chez les mollusques, les taux de protéines et de lipides ne sont pas significativement différents (protéines : 9 à 11 μg/mg de tissu, lipides : 8 à 9 μg/mg de tissu). Chez les crustacés, les taux de protéines sont majoritaires par rapport aux lipides (protéines : 7 à 11 μg/mg de chair, lipides : 1,8 à 3 μg/mg de chair) et la teneur en acides gras insaturés est élevée notamment celle des acides gras polyinsaturés (jusqu'à 20% des acides gras totaux). Chez *P. kerathurus*, le traitement au RH-0345 effectué à une dose unique utilisée dans la lutte contre les moustiques (3,14 μg/l) entraîne une réduction significative (P<0,05) de la teneur en acides gras monoinsaturés et une augmentation de celle des saturés.

Mots clés : Crustacés ; Mollusques ; Halofénozide ; Protéines ; Lipides ; Acides gras.

Abstract

The aim of this work was to develop the nutritional valorization of proteins and unsaturated lipids of crustaceans and molluscs and to evaluate the possible effects of an agonist of the ecdysteroïdes, the halofenozide (RH-0345) on the fatty acid composition of the flesh total lipids of *Penaeus kerathurus* (Crustacean). Content of protein, lipid and fatty acid composition of the eatable part of 3 species of molluscs

Auteur correspondant: elhadi.khebbeb@univ-annaba.org (Mohamed El Hadi Khebbeb)

(*Cardium glaucum*, *Ruditapes decussates*, *Mytilus galloprovincialis* and shrimps *Penaeus kerathurus*, *Aristeus antennatus*, *Parapenaeus longirostris*) were evaluated. Effect of RH-0345 on the fatty acid composition of the flesh total lipids of *Penaeus kerathurus*, fished from the gulf of Annaba (Algeria) were also evaluated. Obtained results showed that content of mollusc proteins and lipids were not significantly different (protein: 9 - 11 µg/mg, lipid: 8 - 9 µg/mg of tissue) but crustacean proteins were significantly higher than lipids (protein: 7 - 11 µg/mg, lipid: 1.8 - 3 µg/mg of tissue) and the unsaturated fatty acid content was important in particular the polyunsaturated fatty acids (up to 20% of the total fatty acids). In *P. kerathurus*, RH-0345 treatment at 3.14µg/l (dose used against mosquitoes) involved a significant reduction of the monounsaturated fatty acids and an increase of the saturated fatty acids amounts.

Key words: Crustaceans; Molluscs; Halofenozide; Proteins; Lipids; Fatty acids.

1. INTRODUCTION

Les mollusques bivalves ainsi que les crevettes jouent un rôle prépondérant dans le transfert de la matière organique et constituent d'excellents indicateurs de la pollution du milieu marin environnant [1]. Ils constituent également un apport alimentaire riche en protéines et en lipides insaturés [2]. Il apparaît ainsi que la consommation de ces aliments exercerait un effet cardioprotecteur qui est dû à la nature des acides gras présents dans les tissus comestibles [3, 4]. Les lipides, les protéines et les glucides sont connus comme étant des précurseurs énergétiques mais ils jouent aussi un rôle important dans plusieurs processus physiologiques [3, 5]. Les lipides, notamment par le biais des prostaglandines, sont impliqués dans la défense immunitaire, la neurophysiologie chez les insectes en général et les crustacés et mollusques en particulier et surtout dans la reproduction lors de la ponte [4]. Les protéines jouent un rôle fondamental dans l'organisme de toutes les espèces biologiques vivantes. Constituants principaux des tissus, elles interviennent dans la formation des gamètes comme source énergétique [6].

Cependant, certains facteurs environnementaux et particulièrement les polluants d'origine industrielle et domestique pourraient agir sur la composition biochimique de ces espèces. La présence de ces facteurs dans le milieu marin a des effets sur les organismes aquatiques ; les effets létaux se traduisent par de graves troubles physiologiques ou par la mort, alors que les effets sublétaux

se manifestent par des perturbations du métabolisme [7].

Parmi ces facteurs, les pesticides occupent une place importante, notamment les régulateurs de croissance (IGRs), dont les benzoylhydrazines, considérés comme étant les premiers agonistes nonstéroïdaux des ecdystéroïdes qui induisent une mue précoce et incomplète chez plusieurs ordres d'insectes. Un de ces IGRs, le halofénozide (RH-0345) est de plus en plus utilisé en agriculture, particulièrement contre les lépidoptères [8] en mimant l'activité biologique de la 20-hydroxyecdysone (20E) des insectes [9], car cette hormone contrôle plusieurs processus physiologiques comme la mue et la reproduction [10]. Par leur action, ces IGRs pourraient avoir des effets secondaires sur des organismes non ciblés tels les crustacés ayant les mêmes processus physiologiques contrôlés par les mêmes hormones [9]. L'objectif de cette étude est d'évaluer la composition en lipides et en protéines et l'apport en acides gras polyinsaturés des tissus comestibles de mollusques (muscles) et de crustacés (chair) ainsi que l'éventuel impact du halofénozide sur la composition en acides gras de la chair de *Penaeus kerathurus*.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1 Echantillonnage et élevage

Les mollusques bivalves adultes des deux sexes *Cardium glaucum*, *Ruditapes*

decussatus sont récoltés au niveau de la lagune d'El Mellah (Est Algérien) alors que *Mytilus galloprovincialis* provient des tables conchylicoles de la même lagune. Les crustacés (*Penaeus kerathurus*, *Aristeus antennatus* et *Parapenaeus longirostris*) sont pêchés au large du golfe de Annaba. Seuls les crustacés des deux sexes arrivés au stade de développement « D » correspondant à l'intermue sont utilisés. Les individus des 6 espèces sont immédiatement pesés et le muscle des mollusques ainsi que la chair des crevettes sont prélevés, pesés et utilisés pour le dosage des lipides et des protéines ainsi que pour l'analyse de la composition en acides gras. Pour l'évaluation des effets du halofénozide, les femelles de *P. kerathurus* (6 par aquarium) sont placées dans des aquariums de 1m × 0,35m × 0,65m (L,I,H), à 25 °C, 37 ‰ de salinité et une photopériode naturelle. L'oxygénation est assurée par une pompe à air et l'eau est filtrée par une pompe filtrante en continu. Les animaux sont nourris tous les deux jours avec de la chair fraîche de moules et de poissons.

2.2 Extraction et dosage des lipides et des protéines

Les lipides et les protéines de la partie comestible des échantillons de mollusques et de crevettes sont extraits [11] et estimés par colorimétrie [12, 13].

2.3 Traitement au halofénozide

Les femelles de *P. kerathurus* nouvellement exuviées en prémue sont traitées au halofénozide à la dose de 3,14 µg/l dans l'eau d'élevage, dose correspondant au ¼ de la DL50 et utilisée dans la lutte contre les moustiques [8]. Après 8 jours, (période durant laquelle la femelle termine son stade de développement par une mue), la chair est prélevée et la composition en acides gras

des lipides totaux est déterminée par chromatographie en phase gazeuse [14].

2.4 Analyse des acides gras

Les acides gras des lipides totaux du muscle des mollusques et de la chair de *P. kerathurus* témoin et traitée au halofénozide sont séparés par Chromatographie en Phase Gazeuse (chromatopack C P 437 A, colonne capillaire CPWA X 58 CB, 30 m long et 0.32 mm diamètre interne, gaz vecteur H₂ à 25 ml/min) et identifiés par comparaison avec un mélange d'acides gras standards (Sigma) [14].

Les résultats sont exprimés par une moyenne suivie d'un écart type (m±s). Les moyennes entre elles sont comparées par le test « t » de Student au seuil 5%.

3. RESULTATS

3.1 Concentrations en protéines et en lipides dans le muscle des mollusques et la chair des crustacés

Les résultats montrent que les taux de protéines ne sont pas différents significativement ($P > 0,05$) chez les mollusques et les crustacés, alors que les taux lipidiques de la chair des crustacés sont significativement plus faibles ($P < 0,05$) par rapport à ceux évalués dans le muscle des mollusques.

3.2 Composition en acides gras totaux chez les mollusques et les crustacés

Les acides gras majoritaires chez les mollusques (Fig. 2) sont représentés par les acides palmitique et stéarique (C16:0 et C18:0) et à un degré moindre l'acide laurique (C14:0). Parmi les acides gras insaturés, le taux d'acide linoléique (C18:2) varie selon l'espèce étudiée de 10 à 20% des acides gras totaux.

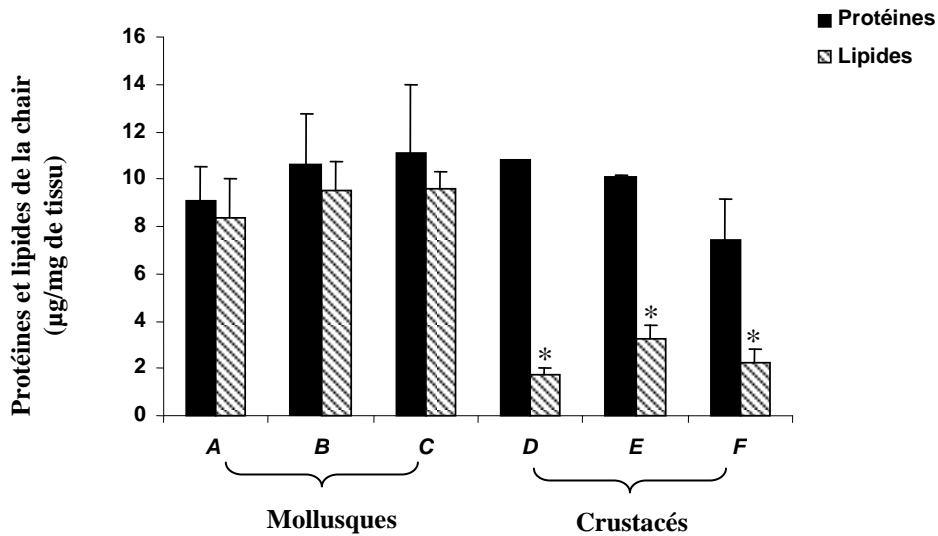


Figure 1. Concentrations en protéines et en lipides (µg/mg de tissu) dans le muscle des mollusques (A, B et C) et la chair des crustacés (D, E et F). ($m \pm s$, $n=6$; *: $P < 0,05$). (A: *R. decussatus*; B: *C. glaucum*; C: *M. galloprovincialis*; D: *P. kerathurus*; E: *A. antennatus*; F: *P. longirostris*)

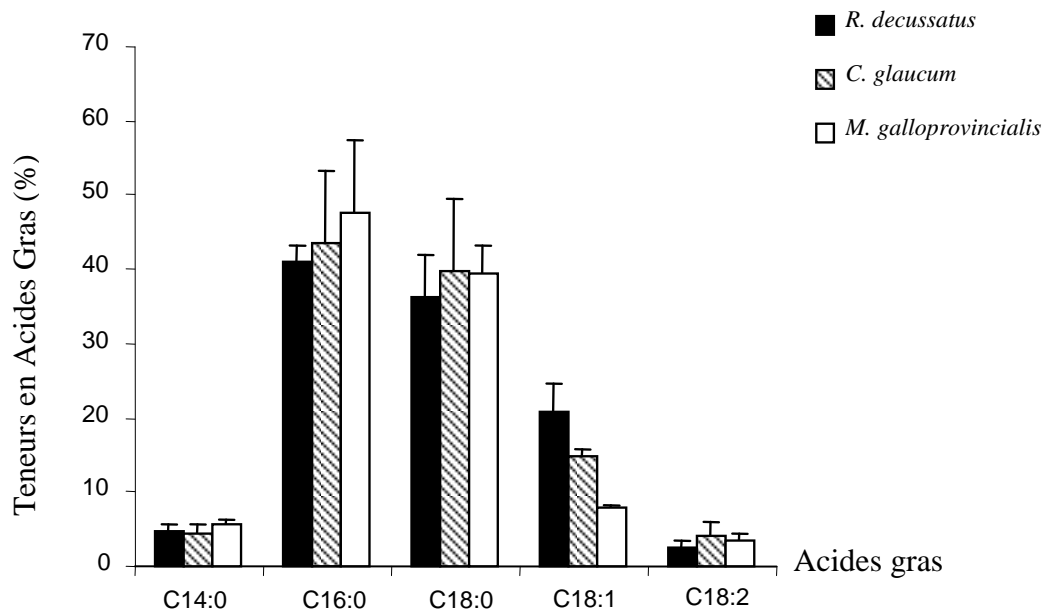


Figure 2. Composition en acides gras (%) des lipides du muscle chez les mollusques. ($m \pm s$, $n=6$)

Chez les crustacés (Fig. 3) le profil en acides gras totaux de la chair est différent de celui des mollusques. En effet, les acides gras majoritaires sont représentés par les acides gras insaturés principalement les acides oléique (C18:1)

et linoléique (C18:2). Ces résultats illustrent bien l'excellent apport des crustacés en lipides insaturés qui sont actuellement connus pour leurs propriétés antiathérogènes [15].

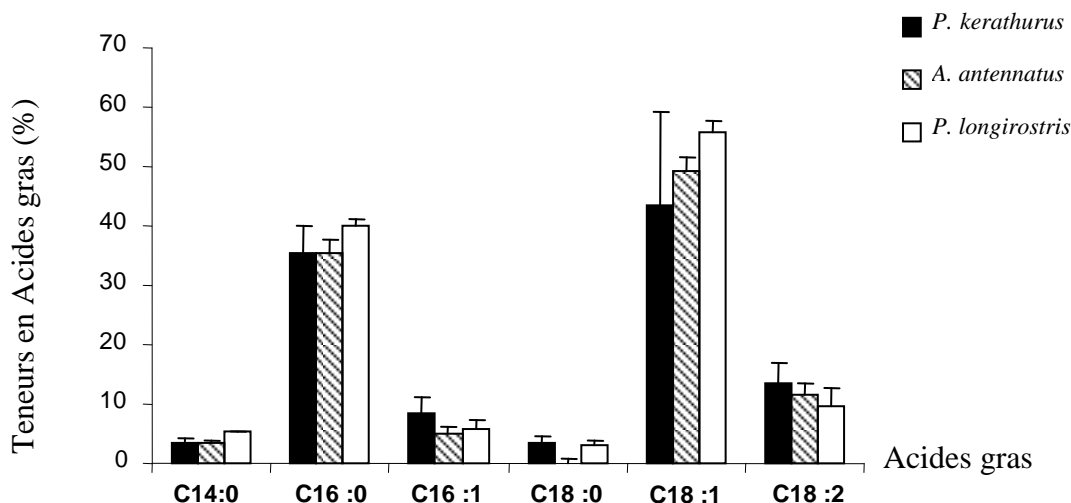


Figure 3. Composition en acides gras (%) des lipides de la chair chez les crustacés ($m \pm s$, $n=6$).

3.3 Effet du halofénozide

Le traitement au halofénozide pendant 8 jours à la dose de 3,14 μ g/l d'eau d'élevage entraîne chez la femelle de *P. kerathurus* une diminution significative ($P < 0,05$) des acides gras monoinsaturés

(Acides oléique et palmitoléique, C18:1 et C16:1) ainsi qu'une augmentation significative ($P < 0,05$) des acides gras saturés (Acides palmitique et stéarique, C16:0 et C18:0) (Fig.4).

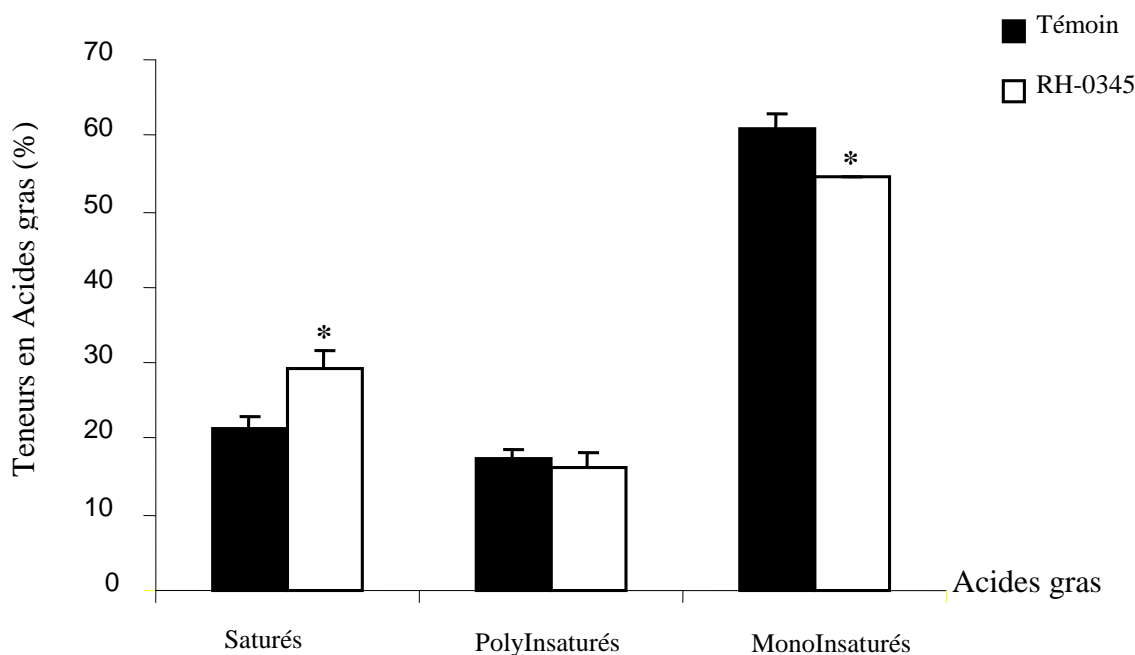


Figure 4. Effet du RH-0346 (halofénozide) sur la composition en acides gras (%) des lipides de la chair des femelles de *Penaeus kerathurus*. ($m \pm s$, $n=6$) (* : Significativement différent par rapport au témoin correspondant au seuil 5%).

4. DISCUSSION

Les organismes marins en général et les mollusques et les crustacés en particulier

représentent une source de protéines et de lipides de bonne valeur nutritionnelle en

alimentation humaine. L'apport en acides gras insaturés confère aux lipides de ces espèces un rôle antiathérogène et cardioprotecteur chez l'homme [16-18].

Dans ce travail, nous avons déterminé la composition en protéines, en lipides et en acides gras du muscle de 3 espèces de mollusques bivalves (*Cardium glaucum*, *Ruditapes decussatus* et *Mytilus galloprovincialis*) et de la chair de 3 crustacés Péneidés (*Penaeus kerathurus*, *Aristeus antennatus* et *Parapenaeus longirostris*). Les résultats obtenus montrent que les tissus comestibles des mollusques et des crustacés contiennent des taux de protéines équivalents conformément aux tables de composition alimentaire [2]. Le muscle des mollusques contient plus de lipides que la chair des crustacés, mais l'analyse de la composition en acides gras de ces tissus montre que les crustacés sont plus riches en acides gras insaturés que les mollusques. Ces résultats, proches des tables de composition alimentaire [2] justifient l'intérêt nutritionnel et commercial qui pousse à l'élevage de masse des crustacés réalisé à proximité de zones agricoles ce qui augmente le risque de contamination des crustacés par les pesticides et les polluants [19].

Nous avons donc évalué les éventuels effets secondaires d'un agoniste non stéroïdal des ecdystéroïdes, le halofénozide (RH-0345) sur la composition en acides gras de la chair de la crevette, *P. kerathurus*. Ce pesticide est largement utilisé dans la lutte contre les lépidoptères particulièrement les moustiques [8], en accélérant le mécanisme de la mue et en agissant sur le processus de la reproduction [20].

Le traitement au RH-0345 a été effectué sur des femelles de *P. kerathurus* durant 8 jours à la dose de 3,14 µg/l d'eau d'élevage. Cette dose correspond au quart de la DL50 utilisée dans la lutte contre les moustiques [8; 20]. Les résultats obtenus montrent que le traitement entraîne une diminution des acides gras monoinsaturés

et une augmentation des acides gras saturés. Ces variations pourraient avoir des conséquences sur la reproduction car il a été montré que chez la majorité des invertébrés les acides gras insaturés jouaient un rôle important dans la maturation des œufs et dans le mécanisme de la ponte [3; 4] notamment par le biais des prostaglandines et des éicosanoïdes. Ces résultats sont à approfondir mais ils montrent la sensibilité des espèces marines à diverses sources de pollutions et ils appellent à la vigilance dans le choix des zones d'élevage des crustacés et des mollusques ainsi que sur la qualité de l'eau utilisée.

Références

- [1] D.E. Conners et A.H. Ringwood, *Effect of glutathione depletion on copper cytotoxicity in oyster (Crassostrea virginica)*, Aquatic Toxicology., Vol. 50, 2000, p. 341-349.
- [2] J.C. Favier, *Répertoire général des aliments: Table de composition*, Tec & Doc. Eds., Paris, 1985
- [3] D.W. Stanley-Samuelson, *Prostaglandins and related eicosanoids in insects*, Adv. Insect Physiol., 1994, p. 24-115.
- [4] D.W. Stanley-Samuelson et V.K. Pedibothla, *What can we learn from prostaglandins and related eicosanoids in insects*, Insect Biochem. Molec. Biol., Vol. 26, Issue 3, 1996, p. 223-234.
- [5] R.G.H. Downer, *Lipid metabolism*, in Comprehensive insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology, G.A. Kerkut, L.I. Gilbert, Eds, Vol. 10, 1985, p.75-114, Pergamon, Oxford.
- [6] P. Borsa, B. Millet, *Recruitment of the clam Ruditapes decussatus in the lagoon of than Mediterranean*, Estuar. Coast. Shelf sci., Vol. 35, 1992, p. 1-12.

- [7] R. Van der Oost, J. Beyerm et N.P.E. Vermeulen, *Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review*, Environmental Toxicology and Pharmacology, Vol. 13, 2003, p. 57-149.
- [8] M. Hami, F. Taibi, G. Smagghe et N. Soltani-Mazouni, *Comparative toxicity of three ecdysone agonist insecticides against the Mediterranean flour moth*, Comm. Appl. Biol. Sci, Ghent University, Vol. 70, Issue 4, 2005 p. 767.
- [9] K.D. Wing, *RH-5849, a non steroidal ecdysone agonist: effects on a Drosophila cell line*, Sciences, Vol. 241, 1988, p. 464-469.
- [10] G. Gäde, K.H. Hoffman et J.H. Spring, *Hormonal regulation in insets: Facts, Gaps, and future directions*, Physiol. Rev., Vol. 77, Issue 4, 1997, p. 963-1032.
- [11] S. Shibko, P. Koivistoinen, C. Trapinac, A. Newhall et L. Friedman, *A method for the sequential quantitative separation and determination of protein, RNA, DNA, lipid and glycogen from a single rat liver homogenate or from sub cellular fraction*, Anal. Biochem., Vol. 19, 1966, p. 415-528.
- [12] G.J. Goldsworthy, W. Mordue et J. Guthkelch, *Studies on insect adipokinetic hormones*. Gen. Comp. Endocrinol., Vol. 18, Issue 3, 1972, p. 545.
- [13] M.M. Bradford, *A rapid and sensitive method for the quantification of micrograms quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding*, Anal. Biochem., Vol. 72, 1976, p. 278-284.
- [14] G. Clément et J. Bézard, *Technique de dosage par chromatographie gazeuse d'un mélange d'acides gras, du butanoïque au docosanoïque*, C.R. Acad. Sci., Vol. 253, 1961, p. 564-566.
- [15] Y.S. Huang, S.L. Pereira et A.E. Leonard, *Enzymes for transgenic biosynthesis of long-chain polyunsaturated fatty acids*, Biochimie, Vol. 86, Issue 11, 2004, p. 793-798.
- [16] M.L. Daviglus, J. Stamler, A. J. Orenca, A.R. Dyer, K. Liu et P. Greenlund, *Fish consumption and the 30 year risk of fatal myocardial infarction*, New England Journal of Medicine, Vol. 336, 1997, p. 1046-1053.
- [17] T.A. Mori, L.J. Beilin, V. Burke, J. Morris et J. Ritchie, *Interactions between dietary fat, fish, and fish oils and their effects on platelet function in men at risk of cardiovascular disease. Arteriosclerosis, Thrombosis & Vascular Biology*, Vol. 17, 1997, p. 279-286.
- [18] J.N. Din, D.E. Newby et A.D. Flapan, *Omega 3 fatty acids and cardiovascular disease-fishing for a natural treatment*, British Medical Journal, Vol. 328, Issue 7430, 2004, p.30-35.
- [19] J.P. Wu et H.C. Chen, *Effects of cadmium and zinc on oxygen consumption, ammonium excretion and osmoregulation of white shrimp (Litopenaeus vannamei)*, Chemosphere, Vol. 57, 2004, p. 1591-1598.
- [20] G. Smagghe, E. Vinuela, H. Van Limbergen, F. Budia et L. Tirry, *Non steroidal moulting hormon agonists : effects on protein synthesis and cuticle formation*, Entomol. Exp. Appl., Vol. 93, Issue 1, 1999.