

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS	I
SOMMAIRE	II
LISTE DES TABLEAUX	IV
LISTE DES FIGURES	V
LISTE DES ABREVIATIONS	VI
GLOSSAIRE	VII
INTRODUCTION	1
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	2
1) Les différents types de pêche à Madagascar	2
1-1) La pêche traditionnelle maritime	2
1.2) La pêche traditionnelle continentale	2
1.3) La pêche artisanale	2
1.4) La pêche industrielle	2
2) Zone de pêche à Madagascar	3
3) Généralités sur <i>Epinephelus malabaricus</i> et <i>Scarus gobban</i>	3
3-1) <i>Epinephelus malabaricus</i>	3
3.2) <i>Scarus ghobban</i>	5
4) Importance de la pêche dans l'alimentation	6
4.1) Composition nutritionnelle des poissons	6
5) Les coproduits de la pêche:	7
5.1) Définition:	7
5.2) Produits dérivés des coproduits des poissons:	8
5.3) Ingrédients alimentaires	8
5.4) Alimentation animale:	9
5.5) Facteurs influençant la valorisation des co-produits de la pêche:	9
6) Enzyme et Hydrolyse enzymatique	9
6.1) Enzymes	9
6.2) Hydrolyse enzymatique	10
7) Les intérêts fonctionnels :	13
MATERIELS ET METHODES	1
1) Matériels	14
1.1) Matériels biologiques	14
2) Méthodologie	14
2.1) Analyses physico-chimiques	14
2.2) Hydrolyse enzymatique	22

2.3) Propriétés fonctionnelles des fractions d'hydrolyses	24
RESULTATS	13
1) Composition biochimique des arêtes de Mérou et de Perroquet	26
1.1) Teneurs en eau et en matière sèche	26
1.2) Teneur en cendres	27
1.3.) Teneur en protéines	27
1.4.) Teneur en matières grasses	27
1.5) Composition en acides aminés	27
1.6) Teneurs en éléments minéraux	28
2) Hydrolyse enzymatique	29
2.1) Le degré d'hydrolyse	29
2.2) Composition biochimique des fractions d'hydrolyse :	31
2.3) Composition en acides aminés dans les deux phases	35
2.4) Propriétés fonctionnelles :	36
DISCUSSIONS	25
1) Composition biochimique des matières premières	37
2) Hydrolyse enzymatique	38
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	35
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	40

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Composition biochimique des arêtes exprimée en g par 100g de matière fraîche	26
Tableau 2 : Composition par rapport à la matière sèche des arêtes.....	26
Tableau 3 : Composition en acides aminés dans les arêtes	28
Tableau 4 : Teneurs en différents éléments minéraux des arêtes de Perroquet exprimées en g/100g d'échantillon.....	28
Tableau 5 : Teneurs en différents éléments minéraux des arêtes de Mérou exprimées en g/100g d'échantillon.....	29
Tableau 6 : Rendements d'hydrolyse	30
Tableau 7 : Composition chimique des culots en g par 100g de matière fraîche	31
Tableau 8 : Composition chimique des surnageant en g par 100g de matière fraîche	31
Tableau 9 : Teneurs en différents éléments minéraux dans les surnageants exprimées en g par 100g de matière fraîche	33
Tableau 10 : Teneurs en différents éléments minéraux dans les culots exprimées en par 100g de matière fraîche :.....	34
Tableau 10 : Composition en acides aminés dans les surnageants.....	35
Tableau 11 : Composition en acides aminés dans les culots	35
Tableau 12 : Capacités de rétention d'eau exprimées par mg/g de fraction.....	36
Tableau 13 : Capacité de rétention d'huile exprimée en mg/g de fraction.....	36

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : <i>Epinephelus malabaricus</i>	3
Figure 2 : <i>Scarus ghobban</i>	5
Figure 3 : Les différents coproduits de poissons	8
Figure 4 : Influence du pH sur l'activité enzymatique.....	11
Figure 5 : influence de la température sur l'hydrolyse enzymatique	12
Figure 6 : Arêtes d' <i>Epinephelus malabaricus</i>	14
Figure 7 : Arêtes de <i>Scarus gobbán</i>	14
Figure 8 : Chromatogramme des acides aminés.....	27
Figure 9 : Degré d'hydrolyse en fonction du temps des arêtes de Mérou sous l'action de la pepsine ..	29
Figure 10 : Degré d'hydrolyse en fonction du temps des arêtes de Perroquet sous l'action de la pepsine.....	30
Figure 11 : Pourcentage de protéine dans le culot et le surnageant de l'arête de Perroquet	32
Figure 12 : Pourcentage de Protéines dans le culot et le surnageant de l'arête de Mérou.....	32
Figure 13 : Teneurs en matières grasses dans les hydrolysats.....	32
Figure 14 : Teneur en éléments minéraux des hydrolysats	33
Figure 15 : Teneur en différents éléments minéraux dans les surnageants	34
Figure 16 : Teneurs en différents éléments minéraux dans les culots	34

LISTE DES ABREVIATIONS

- CNRE : Centre National de Recherche pour l'Environnement
- CV : Chevaux
- DH : Degré d'hydrolyse
- DO: Densité Optique
- FAO: Food and Agriculture Organisation
- Htot: Nombre total de liaisons peptidiques
- IFN: Institut Français des Nominalisation
- IFREMER : Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer
- PE : Prise d'Essaie

GLOSSAIRE

- **Mangrove** : écosystème de marais maritime incluant un groupement de végétaux spécifiques principalement ligneux, ne se développant que dans la zone de balancement des marées, appelée estran, des côtes basses des régions tropicales.
- **Biotope** : Ensemble d'éléments caractérisant un milieu physico-chimique déterminé et uniforme qui héberge une flore et une faune spécifiques.
- **Pesticide** : une substance chimique utilisée pour lutter contre des organismes considérés comme nuisibles.
- **Insecticide** : des substances actives ou des préparations phytosanitaires ayant la propriété de tuer les insectes, leurs larves et/ou leurs œufs.
- **Lactosérum** : la partie liquide issue de la coagulation du lait. Le lactosérum est un liquide jaune-verdâtre, composé d'environ 94 % d'eau, de sucre (le lactose), de protéines et de très peu de matières grasses, il est aussi appelé petit-lait.
- **Eviscération** : Un geste chirurgical consistant à extraire la masse intestinale (les intestins) après avoir effectué une incision abdominale (entaille de l'abdomen), allant de l'appendice xiphoïde (partie inférieure, bas du sternum) au pubis (région inférieure du bas-ventre).

INTRODUCTION

L'alimentation est indispensable à la survie d'un être vivant. L'apport nécessaire à la survie de l'organisme peut être tiré par différents aliments, les produits halieutiques en faisant partie.

Les océans constituent une grande richesse alimentaire très diversifiée (algues, poissons, mollusques). Selon la FAO, (2012) la production mondiale de produits halieutiques s'élève à plus de 148 millions de tonnes par an dont 25% sont considérés comme des déchets. Néanmoins, cette production prouve l'importance des produits halieutiques dans l'alimentation.

Ces produits peuvent être consommés directement à l'état frais. Ils peuvent être congelés, ou transformés. Les transformations vont engendrer une quantité de déchets très importante. De ce fait, les chercheurs se sont intéressés à l'exploitation de ces déchets ou co-produits. Ces derniers se définissent comme étant les parties non utilisées mais récupérables lors des opérations traditionnelles de production (IFREMER, 2010).

La farine de poisson représente aujourd'hui le principal produit de transformation des co-produits. Par ailleurs, les recherches ont montré que les hydrolyses de ces co-produits représentent une source importante de molécules à valeur nutritionnelle très importante (GUERARD *et al.*, 2001).

C'est dans ce cadre que nous avons entrepris cette étude dont l'objectif général est la contribution à l'étude de valorisation des co-produits des poissons (arêtes d'*Epinephelus malabaricus* et de *Scarus ghobban*). Il s'agit d'une façon générale de déterminer la quantité en divers nutriments contenus dans l'arête, d'identifier la présence des molécules intéressantes telles que les protéines dans ces co-produits par hydrolyse enzymatique en présence de la pepsine.

Le travail se présentera en quatre parties :

La première partie sera consacrée à une synthèse bibliographique

Elle est suivie des matériels et méthodes en seconde partie.

La troisième partie sera consacrée aux résultats qui feront l'objet d'une discussion.

L'étude sera clôturée par conclusion et des recommandations.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1) Les différents types de pêche à Madagascar

La pêche est l'un des trois secteurs principaux dont le gouvernement Malgache compte pour le développement économique du pays. Madagascar produit 104 milles tonnes de produits halieutiques par an sur 148 millions de tonnes de production mondiale par an (FAO, 2012).

Le recensement montre qu'à Madagascar, il y a plus de 62 milles pêcheurs professionnels occupant les différents types de pêche, soit 1.2 % de la population active. Ce secteur fait vivre plus de 550 milles familles (FAO, 2012).

Différents types de pêche sont pratiqués à Madagascar :

1-1) La pêche traditionnelle maritime

Ce type de pêche est réalisé dans la mer par des pêcheurs individuels ou en association. Ils utilisent différents moyens d'embarcation simple sans technologie. Ils peuvent aussi aller à pied dans une superficie peu étendue. Leur mode de capture reste simple, ils peuvent même utiliser la main pour la capture (CSP, 2009).

Les produits de pêche capturés sont vendus localement. En général, ce sont ces pêcheurs traditionnels maritimes qui fournissent à la population les protéines animales d'origine halieutique (CSP, 2009).

1.2) La pêche traditionnelle continentale

Ce type de pêche est réalisé dans les rivières, les lacs et les mangroves. Les produits de pêche sont généralement vendus aux sociétés artisanales, au marché ou directement aux consommateurs (CSP, 2009).

1.3) La pêche artisanale

La pêche artisanale utilise de petites embarcations motorisées. Selon le gouvernement, la pêche artisanale devrait contribuer à l'amélioration de l'apport protéique de la population locale et moderniser la pêche traditionnelle à Madagascar (CSP, 2009).

1.4) La pêche industrielle

Selon l'administration chargée de la pêche malgache (ministère de la pêche et des ressources halieutiques), la pêche industrielle est une pêche moderne qui se fait avec de grands navires dont la puissance du moteur dépasse 50 CV. Les produits obtenus sont généralement destinés à l'exportation.

2) Zone de pêche à Madagascar

Selon la W-Safari, les principales régions de la pêche sont les régions Nord et Ouest de Madagascar (Nosy-Be, Diego, Majunga et Tamatave). Les espèces de poissons pêchés sont composées majoritairement de carpes rouges, thons à dents de chiens, mérours, thons jaunes, marlins, thazards, poissons rostres.

Nosy-Be est très réputé pour une biodiversité de poisson que l'on peut pêcher. Le marlin fait partie de ces espèces spécifiques de Nosy-Be ainsi que *Epinephelus* ou mérour qui sont présents dans ces eaux de Nosy-Be. Les mérour malabar peuvent atteindre plus de 350kg (EVRARD, 2014).

3) Généralités sur *Epinephelus malabaricus* et *Scarus*

ghobban 3-1) Epinephelus malabaricus

Epinephelus malabaricus, appelé aussi mérour malabar est une espèce de poisson de très grande taille, osseux, il peut atteindre jusqu'à 234cm avec une taille moyenne de 100 cm. Son corps est constitué d'une large queue arrondie. Cette espèce possède une coloration particulière qui est généralement blanchâtre et marbrée de points sombres. La figure1 illustre la morphologie de l'*Epinephelus malabaricus* :



Figure 1 : *Epinephelus malabaricus* (Source : DUPON, 2009)

3.1.1) Position systématique:

Epinephelus malabaricus appartient au :

Règne	: Animalia
Embranchement	: Chordata
Sous-embranchement	: Vertebrata
Super-classe	: Osteichthyes
Classe	: Actinopterygii
Sous-classe	: Neopterygii
Ordre	: Perciformes
Sous-ordre	: Percoidei
Famille	: Serranidae
Sous-famille	: Epinephelinae
Genre	: <i>Epinephelus</i>
Espèce	: <i>malabaricus</i>

Nom binominal: *Epinephelus malabaricus* (BLOCH ET SCHNEIDER, 1801)

Nom vernaculaire : mérrou, cabot

3.1.2) Distribution et habitat

Le mérrou malabar est présent dans les eaux tropicales de la région indo-ouest Pacifique, dans la mer rouge et dans les côtes orientales.

Ils peuplent les différents types de biotope, les mangroves, les fonds sableux, les récifs coralliens et les rochers. Ils peuvent vivre entre 2 et 150 m de profondeur. (BLOCH ET SCHNEIDER, 1801)

3.1.3) Alimentation

Ces espèces se nourrissent de poissons, de céphalopodes et quelquefois de crustacés (BLOCH ET SCHNEIDER, 1801).

3.1.4) Cycle de vie et reproduction

Epinephelus malabaricus commence sa vie reproductive en étant femelle et ensuite il se transforme en mâle. Chez ce mâle, la maturité sexuelle n'est atteinte qu'à partir de 114 cm.

3.2) *Scarus ghobban*

Scarus ghobban est une espèce de poisson perroquet. C'est un poisson de petite taille, la taille maximale est de 90cm. C'est une espèce de poisson qui commence sa vie reproductive en étant femelle qui, ensuite se transforme en mâle. La phase initiale (femelle) est beige orangée et la phase finale (mâle) est bleue foncée.

Les figures 2 montrent le changement morphologique de l'espèce jusqu'à l'âge adulte.



Phase initiale (femelle)



Phase finale (mâle)

Figure 2 : *Scarus ghobban* (Source: FORSSKAL, 1775)

3.2.1) *Position systématique*

Scarus ghobban appartient au :

Règne	: Animalia
Embranchement	: Chordata
Sous-embr	: Vertebrata
Super-classe	: Osreichtyes
Classe	: Actinopterygii
Ordre	: Perciformes
Sous-ordre	: Labroidci
Famille	: Scaridae
Sous-famille	: Scarinae
Genre	: <i>Scarus</i>
Espèce	: <i>ghobban</i>

Nom binomial : *Scarus ghobban*

Nom vernaculaire : perroquet

3.2.2) *Distribution et habitat*

Les poissons perroquet sont répartis dans le monde entier, surtout dans les zones tropicales mais également dans les zones subtropicales. Ils sont en abondance dans les profondeurs de 1 à 10m (BELLWOOD, 1994).

3.2.3. Alimentation

Les poissons perroquets se nourrissent d'herbes marines et d'algues. Les morceaux de roche peuvent être ingérés pendant l'alimentation qui aide à digérer les algues dures. (FISHBASE, 2017).

4) Importance de la pêche dans l'alimentation

Les produits de la pêche, qu'ils soient frais ou transformés, ont un apport nutritionnel très important. Les produits halieutiques assurent plus de 60% de l'apport protéique animal nécessaire pour la population mondiale. La consommation moyenne de produits halieutiques est de 13.5kg/hab. (NDOYE et *al.*, 2002).

Ces chiffres sont loin d'être atteints à Madagascar. En effet, les produits de la pêche ne couvrent que 29.4% de l'apport protéique. Les dépenses en viande dans le budget sont quatre fois élevées que celles des poissons. (FAO, 1990)

4.1) Composition nutritionnelle des poissons

4.1.1) Protéines

Les protéines sont des macromolécules caractérisées par l'association de différents acides aminés liés par des liaisons peptidiques. La quantité de protéines des aliments diffère et varie d'un aliment à l'autre. On ne peut se passer d'aucune source protéique animale ou végétale.

C'est aussi l'un des trois macronutriments indispensables au bon fonctionnement de l'organisme avec les glucides et les lipides. Les protéines contenues dans la viande peuvent être remplacées par celle contenues dans les poissons (GREGOIRE, 2007).

Les protéines dans les aliments sont classées suivant :

- La quantité de protéines dans chaque aliment
- La quantité d'acides aminés essentiels pouvant être observés et utilisés par l'organisme
- Le taux de digestibilité protéique (CUD), le coefficient d'utilisation protéique participant à la digestion.

Il est à noter que les protéines contenues dans les viandes sont considérées comme de bonne qualité grâce à leur composition en acides aminés essentiels très équilibrée (SENE, 2008).

4.1.2) Les acides aminés

Les acides aminés sont des molécules organiques composés de deux fonctions (une amine $-NH_2$ et un acide carboxylique $-COOH$) et un squelette carboné. Ces acides aminés sont liés par des liaisons peptidiques en formant des protéines.

4.1.3) Les lipides

Ces sont des substances organiques animales ou végétales ; ils sont non solubles dans l'eau et dans les solvants polaires mais solubles dans les solvants organiques et non polaires. Les mélanges de solvant organique apolaire comme l'hexane, l'éther de pétrole, le chloroforme et les solvants organiques polaires tels que les alcools permettent à la fois d'extraire les lipides neutres et les lipides complexes (ROSSIGNOL-CASTERA, 1998).

Les lipides peuvent avoir des rôles énergétiques en tant que réserve d'énergie ou des activités biologiques comme la vitamine, hormone (HALLEREAU, 2003) .

La teneur en matières grasses des poissons influence leur valeur calorique. Plus les poissons sont gras, plus leur valeur calorique est élevée. Les poissons ayant une teneur en graisses inférieure à 1% sont considérés comme des poissons maigres, ceux dont la teneur en graisses est entre 7 à 8%, sont des poissons demi-maigres et les poissons gras sont ceux qui ont une teneur en graisses supérieure à 15%. (LEDERERE, 1998).

Les différents nutriments peuvent être observés dans toutes les parties des poissons que ce soit comestible ou non, à des teneurs variables.

5) Les coproduits de la pêche:

5.1) Définition:

Ce sont les produits non utilisables mais récupérables lors des opérations traditionnelles de production (filetage, décorticage, éviscération, pelage, cuisson des produits bruts) (IFREMER, 2010).

La tête, les arêtes, la peau, les chutes filetages constituent ces différents co-produits.

La conservation, le traitement des co-produits destinés à la valorisation ne diffèrent pas de ceux des parties destinées à la production et à la consommation de la population (IFREMER ,2010).

5.2) Produits dérivés des coproduits des poissons:

Les produits et les co-produits marins constituent une immense ressource de substances actives (GUERARD *et al.*, 2004).

Les dérivés sont des produits commerciaux obtenus à partir des co-produits. Il est à noter qu'un co-produit peut donner plusieurs dérivés. L'obtention des dérivés dépend des co-produits marins utilisés, des techniques utilisés et des propriétés des différents co-produits (IFREMER, 2010).

Les différents co-produits issus des poissons sont récapitulés sur la figure 3 :

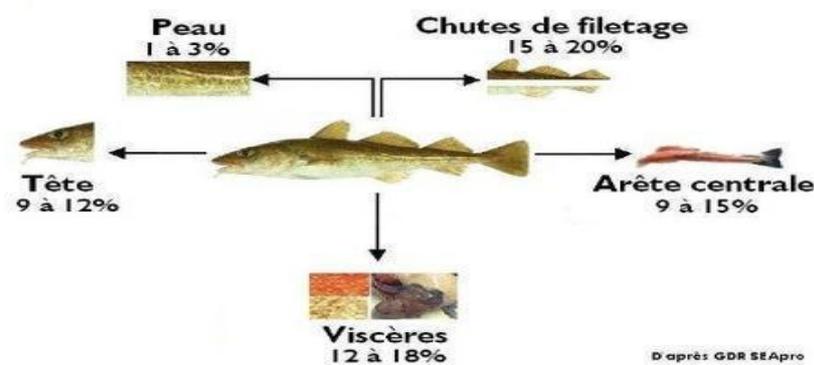


Figure 3 : Les différents coproduits de poissons (Source : IFREMER, 2010)

5.3) Ingrédients alimentaires

Certains dérivés de co-produits marins peuvent être utilisés dans l'alimentation comme ingrédient alimentaire.

5.3.1) Huile

L'huile de poisson peut être utilisée pour combler la carence en certain nutriment grâce à leur richesse en acides gras polyinsaturés de type oméga 3 ce qui leur différencie des autres huiles (IFREMER, 2010).

5-3-2) Farine

Cette valorisation est l'une des plus importantes car tous les co-produits peuvent être utilisés sans faire de tris (SENE , 2008)). Ils sont principalement destinés à l'alimentation animale.

90% de la production de la farine sont assurées par les poissons gras tels que les sardines et Capelan et 10% d'abats de Morue et d'haddock (BARLOW, 2003)

5.4) Alimentation animale:

5.4.1) Les hachis

Ils sont destinés à l'alimentation des animaux du fait de leur forte teneur en protéines. La fabrication se déroule comme suit : éviscération, broyage, filtrage et congélation (SUZANNE, 1998). Ils sont utilisés pour la fabrication des aliments des animaux de compagnie.

5.4.2) Hydrolysats

Les hydrolysats sont des fractions obtenues après autolyse (sous l'action d'enzyme endogène) ou hétérolyse (ajout d'enzyme exogène) dont la teneur en protéine est très élevée (73 à 85 %), ce qui est très recherché en alimentation animale. Les hydrolysats ont beaucoup d'avantage : ils sont très digestes et ont une qualité nutritive très élevée. (LABIER *et al.*, 1995).

Les études économiques ont montré que les peptides de poisson peuvent être utilisés comme substitut du lait (MERRIT ; 1992).

En plus de ces intérêts nutritionnels, les hydrolysats peuvent diminuer les pertes en nutriment des aliments auxquels ils sont associés lors de la cuisson. (SHAHIDI *et al.* , 1995).

5.5) Facteurs influençant la valorisation des co-produits de la pêche:

5.5.1) Gaspillage

Selon la FAO, plus de 20 à 25 % des captures sont considérées comme du gaspillage. Ces pertes peuvent être dues à différents problèmes : conditions de conservation, stockage, la capture des espèces non cible. Ce qui entraîne une perte énorme sur les protéines valorisables (NENE, 2008).

5.5.2) Pollution et dégradation de l'environnement

La pollution marine est le fait d'introduire directement ou indirectement, des substances ou de produits dans la mer (DJIBA, 1992). La pollution marine est généralement effectuée par l'homme. Ces substances peuvent être des déchets industriels, matériels. Ainsi la qualité des produits marins est affectée par les changements de l'écosystème.

6) Enzyme et Hydrolyse enzymatique

6.1) Enzymes

Les enzymes sont des protéines qui jouent un rôle de catalyseur ou d'activateur de réaction chimique. Les enzymes facilitent la transformation ou la dégradation d'une molécule

dans le but d'obtenir une autre molécule, elles sont synthétisées par l'organisme vivant. Chaque réaction chimique a son enzyme spécifique. Toutefois les enzymes peuvent faciliter le déroulement d'une réaction chimique (PIERRE-HYVE, 2010)

6.1.1) Pepsine

La pepsine est une enzyme endogène du suc gastrique qui coupe les liaisons peptidiques avant les acides aminés aromatiques (Tyrosine, Tryptophane et Phénylalanine). Cette enzyme est active en milieu acide avec un pH optimum variant entre 1,8 et 4,4.

Actuellement, la pepsine commerciale est la pepsine A de l'estomac du porc.

6.2) Hydrolyse enzymatique

6.2.1) Définition

L'hydrolyse enzymatique est une réaction chimique catalysée par des enzymes de type hydrolase. Cette réaction chimique fait intervenir des molécules d'eau qui aboutit à un nouveau composé.

L'hydrolyse enzymatique coupe des liaisons qui peuvent être de nature peptidique, lipidique ou osidique en présence d'une enzyme particulière. Dans le cas où ces liaisons sont de nature peptidique, la coupure se fera entre deux acides aminés. Les protéines coupées vont générer plusieurs peptides. Ces derniers vont avoir une sévère amertume, ce qui leur donne une mauvaise réputation (GILGERG *et al.*, 2002).

La coupure des liaisons peptidiques libère des protons H^+ (HOLME, 1998) qui va favoriser l'acidification du milieu. Le degré de dissociation des ions $R-N+H_3$ s'effectue dans un milieu dont le pH est supérieur à 6.5 (RAVELLEC-Plé, 2000). Dans le cas où le pH s'abaisse, ce sont les ions OH^- qui vont être libérés.

La vitesse de l'activité enzymatique va ainsi dépendre de la quantité de soude ou d'acide ajoutée dans le milieu réactionnel pour maintenir le pH constant, c'est la méthode du pHstat (ADLER ET NISSEN, 1986).

6.2.2) Paramètres influençant l'hydrolyse enzymatique.

Une réaction d'hydrolyse enzymatique va dépendre de la concentration en enzyme et substrat, de la température et du pH, de la force ionique, de la présence ou l'absence d'inhibiteur ou activateur et de la quantité d'eau ajoutée (DUMAY, 2006).

6.2.2.1) Influence du pH dans l'activité enzymatique

Le pH peut influencer l'action de l'enzyme. Il peut dénaturer ou déformer le site actif de la protéine en modifiant l'état d'ionisation des acides aminés situés sur ce site.

La variation du pH peut aussi modifier le degré d'ionisation pouvant modifier la formation du complexe Enzyme/Substrat. (SENE, 2008).

La vitesse de réaction va en partie dépendre du pH : si le pH s'éloigne du pH optimum, la vitesse de réaction va diminuer jusqu'à devenir négligeable.

Comme la montre la figure 4, l'activité enzymatique augmente jusqu'à ce qu'il atteigne son pH optimum, il va ensuite diminuer suite à l'augmentation du pH du milieu.

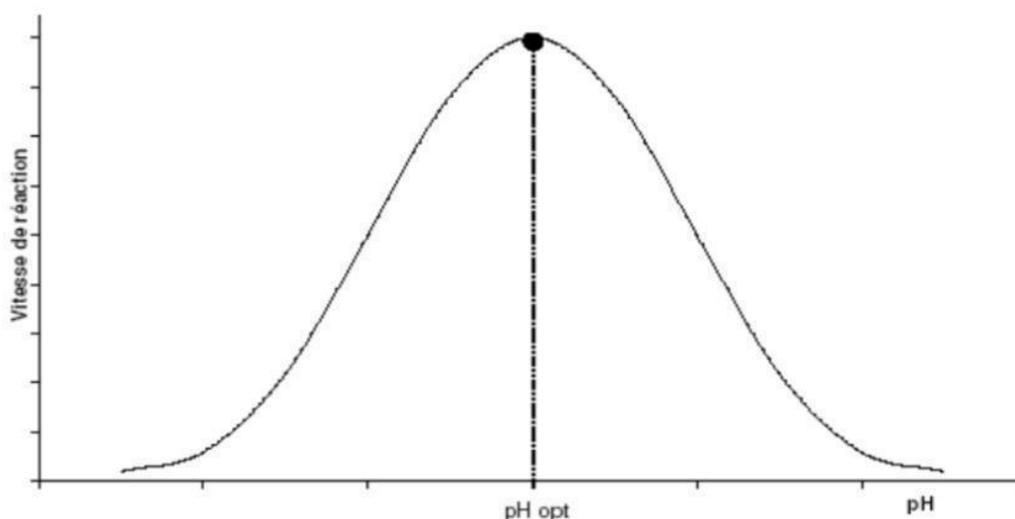


Figure 4 : Influence du pH sur l'activité enzymatique (Source : CUVELLIER, 1999)

6.2.2.2) Influence de la température sur l'activité enzymatique

Dans un certain temps, l'augmentation de la température va accélérer la vitesse de la réaction en donnant de l'énergie nécessaire à l'activation de l'enzyme.

Si cette température continue d'augmenter, l'enzyme va être dénaturée, sa structure va changer et elle va être désactivée. La vitesse de réaction va dans ce temps diminuer et s'arrêter. Les molécules d'enzyme se fixent sur les liaisons peptidiques selon des conditions optimales de température (LANGMYRHR, 1981).

La figure 5 montre la vitesse d'une réaction enzymatique en fonction de la température. La figure montre qu'à la température optimale, la vitesse de la réaction est maximale.

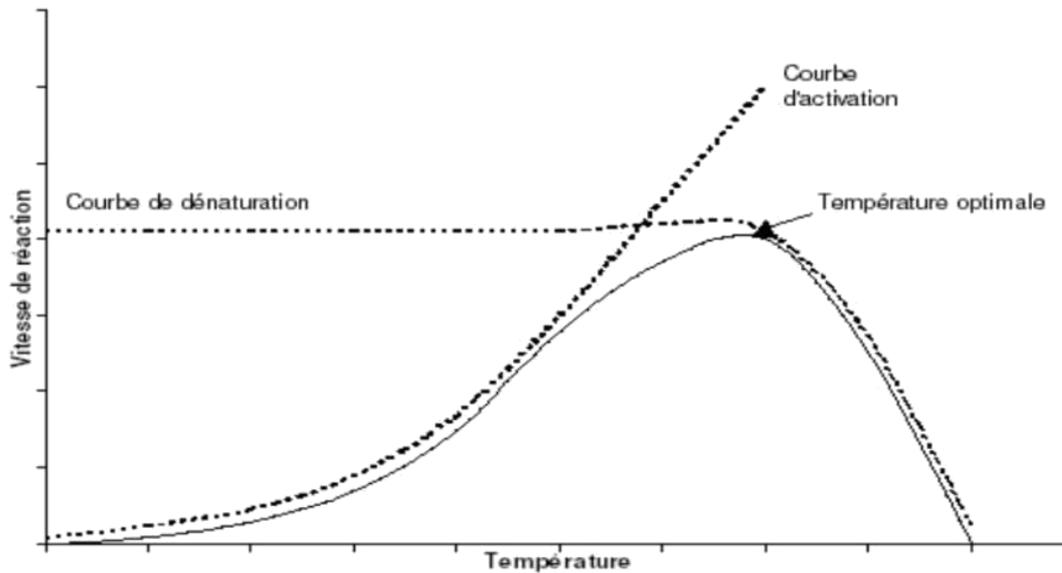


Figure 5 : influence de la température sur l'hydrolyse enzymatique (CUVELLIER, 1999)

6.2.2.3) Influence des substances activatrices et inhibitrices

- **Effets inhibiteurs :**

Les inhibiteurs peuvent ralentir l'activité de l'enzyme en se fixant sur son site actif.

L'effet inhibiteur peut être réversible ou irréversible.

La réaction sera irréversible si l'inhibiteur se fixe sur l'enzyme avec une liaison covalente, l'enzyme va être modifiée chimiquement, elle sera dénaturée. Plusieurs médicaments, des pesticides ou insecticides sont des inhibiteurs enzymatiques.

Par contre, les inhibiteurs réversibles se fixent sur l'enzyme de manière non covalente (Strelow et *al.*, 2004)).

Les inhibiteurs réversibles sont de 3 types :

Inhibiteurs compétitifs : Ces inhibiteurs ont une analogie avec le substrat et l'enzyme. Ils peuvent prendre place sur le site actif. Ils sont alors en compétition avec le substrat pour occuper le site actif de l'enzyme. Le Succinate déshydrogénase fait partie de ces inhibiteurs.

Inhibiteurs non compétitifs : Ils ne sont pas en compétition avec le substrat pour se fixer sur le site actif. Dans ce cas, les inhibiteurs se fixent sur un autre site de l'enzyme sans modifier sa structure et son activité, le site allostérique. Ces inhibiteurs sont présents en grande quantité dans les co-produits marins, toutefois ce type d'inhibition s'observe rarement (GILDBER, 1993). Comme exemple, on peut citer le cytochrome P450 possède plusieurs

inhibiteurs non compétitifs comme le nifépidine, la tranylcipromine, l'hydroxiflavone qui se lie sur un site allostérique de l'enzyme.

Inhibiteurs incompétitifs : ces inhibiteurs ne vont se fixer ni avec le site actif, ni sur le site allostérique. Ils vont empêcher l'apparition de produits. En d'autre terme, ils vont empêcher la disparition du substrat. Les co-produits marins, comme toute matrice vivante, possèdent un grand nombre de ces substances (GILDBERG, 2002).

- **Effet activateur**

Les activateurs sont des substances qui stimulent l'activité de l'enzyme, ils peuvent améliorer l'activité enzymatique.

Les activateurs peuvent être :

- Des activateurs vrais, leur rôle est de favoriser la fixation du substrat au site actif de l'enzyme. Ces types d'activateur peuvent être des trypsines ou des chymotrypsines.
- Des anti-inhibiteurs : ils empêchent les inhibiteurs d'être actifs, ainsi la fixation des enzymes sur le site actif ne sera pas perturbée.

7) Les intérêts fonctionnels :

Les hydrolysats sont destinés, entre autres, pour être introduits dans des aliments afin d'améliorer leur qualité nutritionnelle.

Comme ils sont très riches en peptides, les hydrolysats sont également susceptibles de posséder des propriétés fonctionnelles qui sont très recherchées dans le domaine de l'agroalimentaire. Il est ainsi important d'étudier les propriétés fonctionnelles des hydrolysats comme la capacité à retenir l'eau, l'huile ou les propriétés émulsifiantes.

Ces propriétés dépendent des conditions d'hydrolyse. De ce fait, il est très important de contrôler l'hydrolyse enzymatique afin d'obtenir les propriétés fonctionnelles attendues (SLIZYTE et *al*, 2005)

MATERIELS ET METHODES

1) Matériels

1.1) Matériels biologiques

Les matériels biologiques utilisés pour ce travail sont des arêtes de poissons du genre: *Epinephelus malabaricus* et *Scarus ghobban*.

Les arêtes sont représentées dans les figures 6 et 7.



Figure 6 : Arêtes d'*Epinephelus malabaricus*



Figure 7 : Arêtes de *Scarus ghobban*

Ces arêtes ont été fournies par la société ANTARTICA. Il s'agit de co-produits générés après filetage. Les co-produits sont congelés à -20°C avant leur utilisation.

Les poissons ont été pêchés à Diego Suarez dans le nord de Madagascar.

2) Méthodologie

Les échantillons utilisés sont décongelés pendant une nuit à 4°C avant d'être broyés. Le broyage des échantillons se fait à l'aide d'un Blender de laboratoire.

2.1) Analyses physico-chimiques

2.1.1) Dosage des cendres brutes

2.1.1.1) Principe

Le dosage des cendres brutes se fait par incinération pendant 12h de la matière organique à 550°C. (AOAC, 2005)

2.1.1.2) Mode opératoire

5g d'échantillon sont mis dans une capsule vide préalablement pesée. Deux prises d'essais ont été effectuées pour chaque échantillon. Les capsules sont ensuite introduites dans un four à moufle à une température de 550°C.

Les cendres sont caractérisées par une couleur grisâtre. Une fois cette couleur obtenue, les échantillons sont retirés du four à moufle, refroidis dans un dessiccateur et pesés.

2.1.1.3) Expression des résultats

La teneur en cendres brutes est déterminée par la formule :

$$C\% = \frac{M1 - M0}{Pe} \times 100$$

Avec :

C%= pourcentage en cendre de l'échantillon

M0=masse de la capsule vide en g

M1= masse de la capsule avec l'échantillon après incinération

Pe= Prise d'essai en g

2.1.2) Dosage des éléments minéraux

2.1.2.1) Mise en solution des cendres

La minéralisation se fait en milieu liquide (Laurent, 1991). La teneur en différent élément est déterminée par la mise en solution de la cendre par ajout de l'eau distillée puis de l'acide dans les capsules contenant les cendres brutes.

La quantité d'acide ajoutée dépend de la teneur en cendres de l'échantillon. La solution est versée dans un bécher et placé sur une plaque chauffante pour continuer la minéralisation.

Après refroidissement, les éléments minéraux contenus dans le minéralisât sont récupérés par filtration et rinçage à l'eau distillée.

Le volume obtenu après filtration est ajusté à 100ml avec de l'eau distillée. Cette solution va servir pour déterminer les teneurs en divers éléments minéraux contenus dans l'échantillon.

2.1.2.2) Dosage de calcium, magnésium manganèse et fer

Le dosage de ces éléments minéraux se fait par spectrophotométrie d'absorption atomique.

2.1.2.2.1) Principe :

La spectrophotométrie d'absorption atomique est une méthode d'analyse des éléments minéraux qui exploite l'excitabilité des atomes.

L'excitation de ces éléments dégage une quantité d'énergie. L'énergie déagée va dépendre de la teneur en éléments minéraux dans la solution.

Plus la quantité d'élément minéral dans la solution sera élevée, plus l'énergie déagée sera élevée et le rayonnement émis va être proportionnel à ce rayonnement. Ce dernier sera exprimé sous forme de densité optique (D.O) (DUBOIS, 1999).

2.1.2.2.2) Mode opératoire

L'appareil utilisé est un spectrophotomètre d'absorption atomique (spectre AA-20), la concentration obtenue sera exprimé en mg/l d'élément à doser.

La solution mère obtenue précédemment est diluée avec une solution de lanthane 10%.

Une gamme étalon est établie sur l'appareil pour chaque élément minéral. Une courbe s'y affiche. La concentration en élément minéraux à doser doit être comprise entre la valeur minimale et la valeur maximale de la courbe.

Dans le cas où la concentration est trop importante par rapport à la courbe, la solution sera diluée de façon à obtenir une concentration figurant dans la courbe étalon.

2.1.2.2.3) Expression des résultats :

La teneur en éléments minéraux en mg pour 100g d'échantillon est déterminée grâce à la formule ci-contre :

$$\text{Teneur en éléments minéraux} = X \times 10^{-6} \times \frac{\text{dil} \times V \times 100}{\text{Prise d'essai}}$$

Avec :

X : concentration de l'élément en mg/l, obtenue avec le courbe étalon

dil : Facteur de dilution

V : volume de la mise en solution du filtrat en ml

2.1.2.3) Dosage du phosphore

Le phosphore est déterminé par mesure de l'intensité de coloration de la solution par ajout de réactif Vanadomolibdique. L'ajout de ce réactif va donner une coloration jaune aux solutions, dont l'intensité dépendra de la concentration en phosphore de la solution (LAURENT, 1991).

Une source lumineuse va envoyer un faisceau de radiation qui sera absorbée par les substances chimiques. Une cellule photoélectrique mesure l'intensité du faisceau de radiation transmise. Le rayonnement sera exprimé en densité optique.

$$\text{DO} = e \times L \times C$$

Avec :

e : Coefficient d'extension moléculaire d'un soluté donné, à une longueur d'onde donnée.

L : épaisseur de la solution traversée en cm

C : Concentration de la solution à doser.

2.1.2.3.1) Mode opératoire :

Une gamme étalon avec des concentrations allant de 0 à 50mg/ l de solution de phosphore est préparée à partir d'une solution mère et de l'eau distillée.

La solution à doser est diluée à différentes concentrations avec de l'eau distillée. Le volume final est de 9ml. 1 ml de molybdate d'ammonium est ensuite ajouté dans chaque préparation.

Les solutions sont laissées au repos à l'obscurité pendant 15 minutes avant de lire les densités optiques sur un spectrophotomètre à 420nm.

2.1.2.3.2) Expression des résultats

Les D.O obtenues sont reportées sur la courbe étalon pour déterminer la concentration en phosphore.

La concentration en phosphore est obtenue grâce à la formule suivante :

$$\mathbf{P\% = X} \quad \mathbf{10^{-6} \times \frac{dil \times V \times 100}{Prise \ d'essai}}$$

Avec

P% : Teneur en phosphore en g, pour 100g d'échantillon

V : Volume de la mise en solution du filtrat en ml

dil : inverse du facteur de dilution.

2.1.3) Détermination de la teneur en eau

2.1.3.1) Principe

La teneur en eau de l'échantillon est déterminée par la mesure de la quantité d'eau perdue après dessiccation pendant 24h de l'échantillon à une température de 103°C dans une étuve (MALEWIAK et al, 1992)

2.1.3.2. Mode opératoire

Après pesage des capsules sur une balance de précision, 5 g d'échantillon sont placés dans chaque capsule. Les capsules sont ensuite placées dans l'étuve à une température de 103°C pendant 4h environ.

2.1.3.3) Expressions des résultats :

La teneur en eau est obtenue grâce à la formule :

$$\mathbf{H\% = \frac{M1 - M2}{M1 - M0} \times 100}$$

Avec :

H% : teneur en eau en g pour 100g d'échantillon

M0 : masse en g de la capsule vide

M1 : masse en g de la capsule avec l'échantillon avant étuvage

M2 : masse en g de la capsule avec l'échantillon après étuvage.

La teneur en matière sèche est déterminée par la formule :

$$\mathbf{MS\% = 100 - H\%}$$

Avec :

MS% : teneur en matière sèche en g pour 100g d'échantillon

H% : teneur en eau en g pour 100g d'échantillon

2.1.4) Dosage des matières grasses

2.1.4.1) Principe

Le dosage des matières grasses se fait par l'extraction des lipides à l'aide d'un solvant. (Wolff, 1957).

2-1-4-2) Hydrolyse acide

5g d'échantillon sont mis dans un erlen Meyer. 20 ml d'acide chlorhydrique et du cérite sont ajoutés dans chaque erlen. L'analyse s'effectue en deux prises d'essai.

L'erlen contenant la solution sera chauffé sur une chauffe ballon pendant 30 minutes après l'ébullition.

La solution est ensuite filtrée en versant de l'eau chaude dont le but est d'éliminer l'acide contenu dans l'échantillon.

L'échantillon neutralisé est ensuite séché.

2.1.4.3) Extraction des lipides

L'extraction des lipides dans les échantillons séchés se fait à l'aide de l'appareil de Soxhlet :

Les hydrolysats séchés sont placés dans une cartouche à extraction.

L'hexane est introduit dans un ballon préalablement pesé.

La cartouche est placée dans l'appareil de Soxhlet et le ballon contenant l'hexane au-dessous de l'appareil. Un tube réfrigérant est relié à la partie supérieure de l'appareil Soxhlet.

Le ballon est chauffé à l'aide d'un chauffe-ballon, réglé à une température à thermostat 5, dans le but d'obtenir au moins 10 siphonages à l'heure.

L'extraction dure 6h environ. Après extraction, le ballon est concentré au rotavapor, le contenu du ballon est séché puis l'ensemble est repesé

2.1.4.4) Expression des résultats :

La teneur en lipides est déterminée par la formule :

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

Avec

L% = Teneur en lipides

M0 = masse de la prise d'essai en g

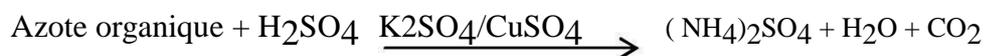
M1 = masse du ballon vide en g

M2 = masse du ballon contenant les lipides en g

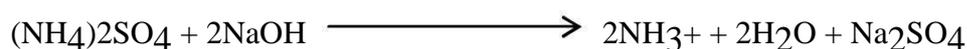
2.1.5) Dosage des protéines

2.1.5.1) Principe

Le taux d'azote total est dosé après minéralisation à l'acide sulfurique selon la méthode de Kjeldal. La teneur en protéines est déterminée à partir du taux d'azote total. (Crooke et Simpson, 1971).



L'azote ammoniacal sous forme de sulfate d'ammonium est déplacé en ammoniac par addition d'un excès de soude.



L'ammoniac fixé par l'acide borique est ensuite titré avec de l'acide sulfurique 0,1 N



2.1.5.2) Mode opératoire

Le dosage des protéines s'effectue en trois étapes :

2.1.5.2.1) Minéralisation

Sur une balance de précision, 0,5g d'échantillon broyé est pesé. L'échantillon est ensuite placé dans un matras contenant 20 ml d'acide sulfurique concentré et une pastille de Wieninger (Merck Darmstadt, Allemagne) qui sert de catalyseur. Les matras sont chauffés à 450°C environ dans un minéralisateur.

La minéralisation est arrêtée lorsque la couleur de la solution dans le matras devient bleu claire.

2-1-5-2-2) Distillation

Après refroidissement du minéralisat, 20ml d'eau distillée sont ajoutés dans chaque matras. Quelques gouttes d'indicateur coloré (bleu de méthylène) sont versées dans un bécher contenant 20 ml d'acide borique. Ce bécher est ensuite placé à l'extrémité droite du distillateur en s'assurant que le tube soit bien plongé dans la solution d'acide borique.

Le matras est branché à la partie gauche du distillateur d'azote Buchi K355.

L'ajout de 50 ml de solution d'hydroxyde de soude à 40% va neutraliser le minéralisat dans le matras. La distillation s'effectue en 10 minutes, l'azote contenu dans le minéralisat va être distillé et récupéré dans le bécher placé précédemment à la partie droite. Le distillat récupéré est de couleur verte (MAHUZIER et al . , 1990).

2.1.5.2.3) Titration

La quantité d'azote contenu dans le distillat est dosée par ajout d'acide sulfurique 1N, jusqu'à l'obtention d'un virage de la couleur vert claire à bleu violacée, correspondant à la couleur du bleu de méthylène, l'indicateur coloré.

2.1.5.2.4) Expression des résultats :

La teneur en azote en g pour 100g d'échantillon est obtenue par la formule :

$$N\% = \frac{1,4 \times V \times n}{M}$$

Avec :

N% : pourcentage en azote total

V : volume en ml d'acide sulfurique 0,1N

M : masse en g de la prise d'essai

N : normalité de l'acide sulfurique

La teneur en protéines est obtenue grâce à la formule suivante :

$$P = N \times 6,25$$

Avec :

6,25 : facteur de conversion utilisé

P : teneur en protéines

N : pourcentage d'azote total

2.1.6) Détermination de la composition en acides aminés

2.1.6.1) Principe

Pour déterminer la composition en acides aminés, les échantillons vont subir une hydrolyse acide, dont le but est de couper les liaisons peptidiques pour obtenir des acides aminés libres. Les échantillons seront séchés avant la détermination de la composition en acides aminés par chromatographie sur couche mince. Cette méthode permet de séparer les acides aminés selon leur affinité avec la phase mobile. La distance parcourue par la phase mobile va dépendre de leur solubilité. Les composants les plus solubles sont ceux qui se déplacent les plus vite.

2.1.6.2) Hydrolyse acide

0.41g d'échantillon est pesé sur une balance de précision, et versé dans un tube à essai contenant 0.63ml d'acide chlorhydrique. Le tube est ensuite placé dans un digesteur à tube à essai à une température de 110°C pendant 72h. L'échantillon est ensuite séché à 70°C pour éliminer l'acide.

La préparation de la solution pour la chromatographie se fait par ajout d'eau distillée dans les tubes à essai contenant l'échantillon séché.

2.1.6.3) Préparation du chromatogramme

Les acides aminés témoins ainsi que les solutions sont déposés à 0.5 cm à l'extrémité d'une plaque de Silice à l'aide de capillaire. Chaque dépôt est séché de suite à l'aide d'un sèche-cheveux pour éviter la diffusion.

Avant de mettre l'extrémité de la plaque dans la cuve à chromatogramme ascendant, un système de solvant de migration composé de butanol /acide/eau distillée à 2/6/6 est préparé.

Une fois que la phase mobile atteint le front de la plaque, la chromatographie est arrêtée, la plaque est sortie de la cuve à chromatogramme.

Des taches sont ainsi obtenues par révélation avec une solution de ninhydrine à 0.2% dans l'acétone.

2.1.6.4) Expression des résultats

Les références frontales sont obtenues grâce à la formule ci-dessous :

$$\mathbf{Rf} = \frac{\mathbf{d}}{\mathbf{D}}$$

Avec :

Rf : référence frontale

d : distance parcourue par la substance en cm

D : distance parcourue par la phase mobile au front du solvant cm

Les acides aminés des échantillons sont identifiés pas comparaison de leurs Rf avec celles des acides aminés témoins.

2.2) Hydrolyse enzymatique

2.2.1) Principe

Comme ont est en présence de protéase, l'objectif de l'hydrolyse enzymatique est de couper les liaisons peptidiques des protéines, de telle sorte que les fractions coupées soient libérées. Ces dernières seront récupérées et utilisées ultérieurement.

De ce fait, il est très important de contrôler les paramètres de température et de pH, de s'assurer qu'ils soient bien adaptés à l'enzyme utilisée.

Au cours de l'expérience, ces deux paramètres sont contrôlés par un thermo-pH mètre afin qu'ils soient maintenus constants. (GREGOIRE, 2007)

2.2.2) Mode opératoire

Etape de l'hydrolyse enzymatique :

Dans un bécher contenant 150g d'échantillons broyés sont ajoutés 150ml d'eau distillée.

Le bécher est ensuite placé sur une plaque chauffante jusqu'à ce que la température atteigne 40°C. Une fois cette température atteinte, de l'acide chlorhydrique 1N est ajouté jusqu'à l'obtention d'un pH égal à 2. Une fois ces deux conditions respectées et stabilisées, 3g de pepsine sont ajoutées dans le milieu réactionnel. La solution est agitée à l'aide d'un agitateur magnétique dans le but de répartir l'enzyme dans toute la surface du bécher.

Un thermo-pH mètre est plongé dans la préparation pour contrôler la variation de la température et du pH.

Pendant 3h d'hydrolyse, à chaque fois que le pH du milieu varie, de l'acide chlorhydrique est ajouté pour le maintenir à 2.

Au bout de 3h, l'activité de l'enzyme est arrêtée par ajout de soude 5N, jusqu'à la neutralisation du milieu.

2.2.3) Centrifugation

La solution est ensuite refroidie à température ambiante avant d'être versée dans des tubes à centrifugation. La centrifugation se fait pendant 20 minutes à 5000 tours par minute.

Après centrifugation, on a pu obtenir 2 fractions : la phase soluble, le surnageant et la phase insoluble, le culot.

Ces fractions sont ensuite séchées pendant 7 jours à une température de 70°C et l'analyse Biochimique des fractions est effectuée.

2.2.4) Calcul du degré d'hydrolyse (DH)

Le degré d'hydrolyse est le pourcentage du nombre de liaisons peptidiques coupées (h) par rapport au nombre de liaisons peptidiques totales (htot). Ce pourcentage va dépendre de l'activité de l'enzyme dans le milieu.

Le degré d'hydrolyse est obtenu grâce à la formule suivante (ZHAO et al ; 1996) :

$$\%DH = \frac{h}{htot} \times 100 = \frac{BNb}{(1-\alpha) \times htot \times MP} \times 100$$

Avec :

H = nombre de liaisons peptidiques coupées lors de l'hydrolyse enzymatique

B = quantité d'acide ajouté en ml

Htot = 8,6 milliéquivalent / kg

Nb = normalité de l'acide

MP = masse de protéine en g

α = facteur de dissociation du groupement α -NH₂ qui est égal à

$$\alpha = \frac{10^{(pH-pK)}}{1 + 10^{(pH-pK)}}$$

La valeur de pk varie en fonction de la température suivant l'équation :

$$PK = 7,8 + \frac{298 - T}{298} \times 2400$$

Avec T = température en Kelvin

2.2.5) Le rendement des produits dérivés

Le rendement des produits dérivés est obtenu grâce à la formule suivante :

$$R\% = \frac{\text{Quantité en g des poudres de produit dérivé obtenu}}{\text{Quantité en g des coproduits utilisés}} \times 100$$

2.3) Propriétés fonctionnelles des fractions d'hydrolyses

2.3.1) Capacité d'absorption d'eau

2.3.1.1) Mode opératoire

Pour mesurer la capacité d'absorption d'eau, la méthode utilisée est celle de SATHIVEL et al. (2005).

Dans un tube à essai préalablement pesé sont mis 50 mg de fraction d'hydrolyse et 5ml d'eau distillée. La solution rendue homogène à l'aide d'une spatule en aluminium.

L'homogénéisation se fait toutes les 10 minutes pendant 30 minutes.

La solution est ensuite centrifugée à 2560 tours/ min pendant 25 minutes. Enfin, l'eau du tube à essai est décantée et le tube à essai de nouveau pesé.

2.3.1.2) Expression des résultats

La capacité de rétention d'eau des fractions d'hydrolyse est déterminée grâce à la quantité d'eau absorbée par les fractions.

2.3.2) Capacité de rétention d'huile

2.3.2.1) Mode opératoire

La méthode utilisée est la même que celle de la rétention d'eau, décrite par SATHIVEL et *al.* (2005).

500mg de poudre de fractions d'hydrolyses sont mélangés à 10 ml d'huile de soja dans un tube à centrifugation initialement pesé. La solution est mélangée toutes les 10 minutes pendant 30 minutes en laissant au repos à température ambiante pendant les décalages de 10 minutes. Le mélange est centrifugé à 2560 tours/ min pendant 25 min. L'huile est décantée et le tube est pesé.

2-3-2-2) Expression des résultats

La capacité d'absorption d'huile des différentes fractions d'hydrolyses est déterminée par la quantité d'huile en ml absorbée par g de produit.

RESULTATS

1) Composition biochimique des arêtes de Mérou et de Perroquet

La composition biochimique des arêtes à l'état frais des deux espèces est résumée dans le tableau 1. Les résultats sont exprimés en pourcentage \pm écart type :

Tableau 1 : Composition biochimique des arêtes exprimée en g par 100g de matière fraîche

Composants	Arêtes de Mérou		Arêtes de Perroquet	
Eau (humidité)	42.84	± 1.25	67.82	± 0.25
Matière sèche	57.16	± 1.25	32.18	± 0.25
Cendres	28.18	± 2.33	10.95	± 0.22
Protéines	15.42	± 0.66	16.46	± 0.1
Lipides	4.31	± 0.24	0.58	0

A travers le tableau 2 ci-dessous, on peut voir la répartition en cendres, en protéines et en lipides dans la matière sèche, les résultats sont exprimés en pourcentage.

Tableau 2 : Composition par rapport à la matière sèche des arêtes

Composant	Arêtes de Mérou	Arêtes de Perroquet
Protéines	26.97	51.14
Lipides	7.54	1.80
Cendres	49.30	34.02

Le tableau 2 montre une très forte teneur en protéine, des arêtes de Perroquet et une teneur en matières grasses très élevée pour les arêtes de mérou.

1.1) Teneurs en eau et en matière sèche

Comme l'indique les tableaux 1 et 2, la teneur en eau des arêtes de Mérou est de 42.84%. Ce qui donne une teneur en matière sèche de 57.16%.

Par contre, les arêtes de Perroquet ont une teneur en eau de 67.82% et possèdent 32.18% de matière sèche.

1.2) Teneur en cendres

A travers le tableau 1 , par rapport à la matière fraîche, la teneur en substances minérales des arêtes de mérrou est de 28.18% et celle des arêtes de Perroquet est de 16.92%.

Par rapport à la matière sèche (tableau 2), la teneur en substance minérale est de 49.30% pour les arêtes de mérrou et de 33.93% pour celles de Perroquet.

1.3.) Teneur en protéines

Par rapport à la matière fraîche, la teneur en protéines est de 15.42% pour les arêtes de Mérrou et de 16.46% pour celles de Perroquet.

1.4.) Teneur en matières grasses

Par rapport à la matière fraîche, la teneur en matières grasses est de 4.31% pour les arêtes de Mérrou et 0.58% pour les arêtes de Perroquet. Par contre, la matière sèche a une teneur en lipides de 7.54% pour les arêtes de cabot et 1.80% pour le Perroquet.

1.5) Composition en acides aminés

La détermination des acides aminés dans l'échantillon se fait par comparaison des références frontale avec celles des acides aminés témoins.

La figure 8 montre le déplacement des dépôts sur la couche de chromatogramme.



Figure 8 : Chromatogramme des acides aminés

Ala : Alanine, Phe : Phénylalanine, Thr : Threonine, Ileu: Isoleucine, Tyr: Tyrosine, Leu: Leucine, Val: Valine, Glu: Glutamine, CC: Culot Mérrou, CP : Culot Perroquet, MC : matière première Mérrou, MP : matière première Perroquet, SC : Surnagent Mérrou, Surnagent Perroquet

Le tableau 3 montre la composition en acides aminés des arêtes après chromatographie

Tableau 3 : Composition en acides aminés dans les arêtes

Echantillon	Distance parcourue	Rf	Acide aminé
Arêtes de Mérou	3.5	1.54	Trp*
	5.3	1.04	Ileu*
	3.5	1.54	Thr*
Arêtes de Perroquet	2.5	2.16	Glu
	5.3	1.02	Trp*

Le tableau 3 montre que les arêtes contiennent des acides aminés essentiels comme l'isoleucine, le tryptophane, la thréonine.

1.6) Teneurs en éléments minéraux

Les teneurs en éléments minéraux des deux espèces sont résumées dans le tableau 6.

Les résultats sont exprimés en pourcentage \pm écart type :

Tableau 4 : Teneurs en différents éléments minéraux des arêtes de Perroquet exprimées en g/100g d'échantillon

Composants	Pourcentage	
Fe	0.002	± 0.0002
Mg	0.25	± 0.00058
Mn	0.004	± 0.00003
Zn	0.002	± 0.000076
Ca	10.78	± 0.00009
P	0.12	± 0.0006

Le tableau 4 montre que les arêtes de perroquet ont une teneur en calcium très importante, une teneur en phosphore assez importante. La teneur en fer est très faible par rapport aux autres éléments.

Tableau 5 : Teneurs en différents éléments minéraux des arêtes de Mérrou exprimées en g/100g d'échantillon

Composants	Pourcentage	
Fe	0.54	±0.00019
Mg	0.15	±0.0005
Mn	0.014	±0.00077
Zn	0.01	±0.00021
Ca	2.67	±0.0004
P	0.027	±0.00003

La teneur en éléments minéraux des arêtes de mérrou est consignée dans le tableau 5 qui montre une teneur en calcium supérieure à celle des autres éléments minéraux et une très faible teneur en zinc.

2) Hydrolyse enzymatique

Les paramètres conditionnant la réaction d'hydrolyse enzymatique ont été bien respectés, à savoir la température optimale de la réaction, le temps (3h) et le pH optimum.

2.1) Le degré d'hydrolyse

La courbe ci-contre (figure 9) montre la variation du degré d'hydrolyse en fonction du temps des arêtes de mérrou.

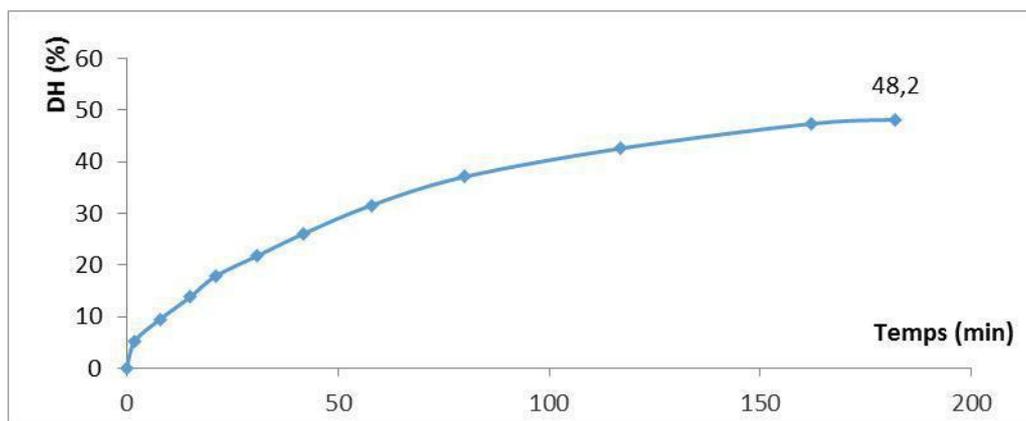


Figure 9 : Degré d'hydrolyse en fonction du temps des arêtes de mérrou sous l'action de la pepsine

La courbe a une allure ascendante, le degré d'hydrolyse atteint une vitesse maximale pendant la première heure de la réaction. Un degré d'hydrolyse (DH) de 48, 2% au bout de 3h

La courbe (figure10) illustre le degré d'hydrolyse des arêtes de perroquet

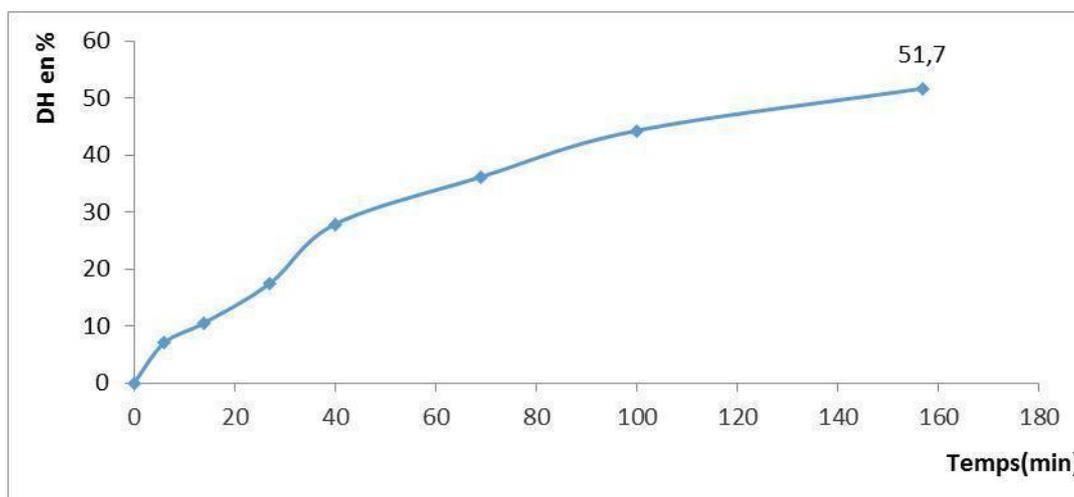


Figure 10 : Degré d'hydrolyse en fonction du temps des arêtes de perroquet sous l'action de la pepsine.

A travers ces courbes, on peut observer l'évolution du degré d'hydrolyse en fonction du temps : pendant la première heure d'hydrolyse, la vitesse de réaction est à son maximum. On observe une allure croissante de la courbe. La vitesse de la réaction diminue au fil du temps, la réaction est arrêtée au bout de 3h.

Rendement :

Le rendement est le rapport en pourcentage de la quantité de poudre des fractions d'hydrolyse obtenues sur la quantité de substrat utilisé. L'hydrolyse enzymatique des arêtes de poisson a donné 2 fractions : le culot et le surnageant.

Le tableau 6 montre les rendements en pourcentage de ces deux fractions.

Tableau 6 : Rendements d'hydrolyse

Phase	CAM	CAP	SAM	SAP
Rendement %	25.63	35.97	25.08	36.20

CAM : Culot arêtes de mérou, CAP : Culot arêtes de perroquet, SAM : Surnagent arêtes de mérou, SAP : Surnagent arêtes de perroquet

2.2) Composition biochimique des fractions d'hydrolyse :

La composition biochimique des fractions d'hydrolyse a été déterminée après séchage des produits. La composition biochimique des culots des deux espèces est résumée sur le tableau 7. Les résultats sont exprimés en pourcentage.

Tableau 7 : Composition chimique des culots en g par 100g de matière fraîche

Composants	Arêtes de mérrou		Arêtes de perroquet	
Cendres	54.71	±0.44	50.01	±0.04
Humidité	2.74	±0.14	3.05	±0.14
Protéines	27.68	±1.25	37.38	±0.4
Lipides	7.37	±0.44	2.36	±0.03

Le tableau 7 montre que la teneur en eau des culots est de 2.74% pour les arêtes de mérrou et 3.05% pour celles de Perroquet.

La quantité de protéines dans les culots est de 27.68% pour les arêtes de Mérrou et 37.38% pour le Perroquet.

Le culot issu des arêtes de mérrou a une teneur en éléments minéraux de 54.71% ce qui est supérieure à celle des arêtes de Perroquet qui est de 50.01%

Les arêtes de Mérrou ont aussi une teneur en matières grasses plus élevée dans le culot issu de l'hydrolyse que les Perroquets. Elles sont respectivement de 7.37% et de 2.36%.

La composition biochimique des surnageant est exprimée dans le tableau 8.

Tableau 8 : Composition chimique des surnageant en g par 100g de matière fraîche

Composant	Arête de Mérrou		Arête de Perroquet	
Cendres	41.90%	±2.12	23.96%	±0.28
Humidité	21.79%	±0.34	19.50%	±0.6
Protéines	41.73%	±0.9	54.87%	±1.83
Lipides	1.58%	±0.8	0.66%	±0.42

Les figures 11 et 13 montrent les répartitions des nutriments dans les deux fractions d'hydrolyse après l'action de la pepsine.

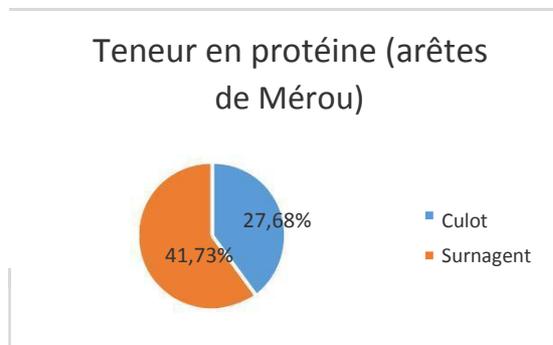


Figure 11 : Pourcentage de protéine dans le culot et le surnageant de l'arête de Perroquet

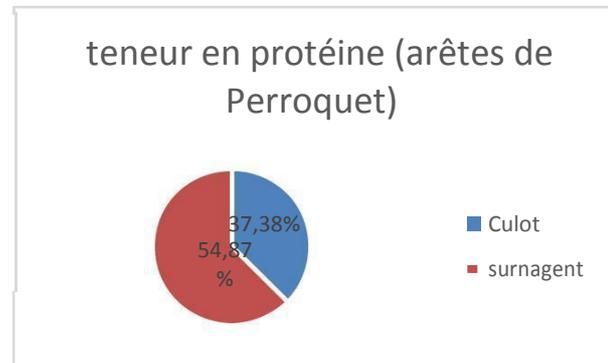


Figure 12 : Pourcentage de Protéines dans le culot et le surnageant de l'arête de Mérou

Les figures 11 et 12, montrent la différence des teneurs en protéines du culot et surnageant des arêtes de poissons, les surnageants ont des teneurs en protéines plus élevées que les culots.

Pour les matières grasses, les teneurs dans les différentes fractions sont illustrées dans la figure 13.

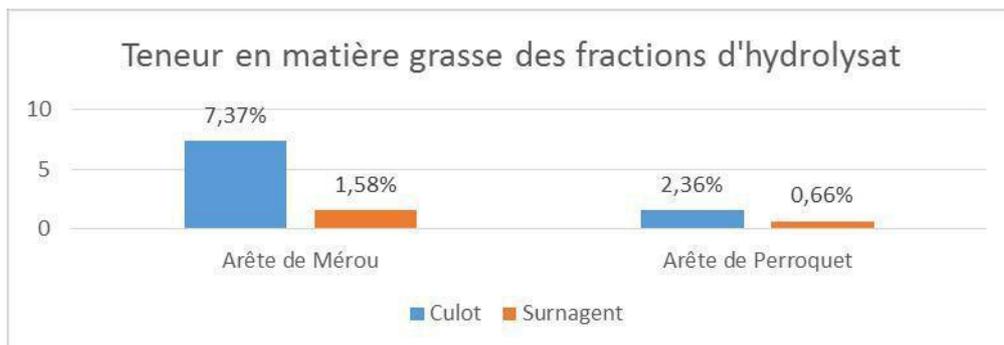


Figure 13 : Teneurs en matières grasses dans les hydrolysats

Le graphe montre que, pour les deux espèces, les culots ont des teneurs en matières grasses plus élevée que les surnageants.

Les teneurs en éléments minéraux dans les fractions des deux espèces sont illustrées sur la figure 14:

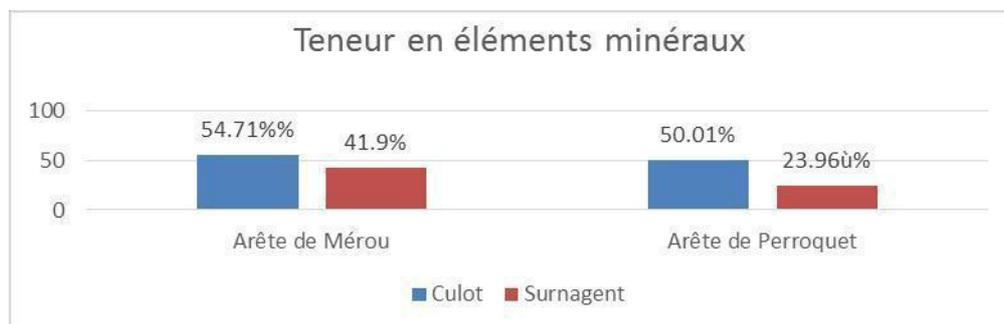


Figure 14 : Teneur en éléments minéraux des hydrolysats

La figure montre que les teneurs en éléments minéraux sont plus élevées dans les culots (54,71% pour les arêtes de mérou et 50,01% pour les arêtes de perroquet) que dans les surnageants (41,9 et 23,96).

Teneur en différents éléments minéraux dans les deux phases :

Les teneurs en différents éléments minéraux dans les phases obtenues après hydrolyse sont représentées dans le tableaux 9 et figures 15 ci-après :

Tableau 9 : Teneurs en différents éléments minéraux dans les surnageants exprimées en g par 100g de matière fraîche

Composants	Arêtes de cabot		Arêtes de Perroquet	
Fe	0.002	±0.00001	0.001	±0.00001
Mg	0.12	±0.00001	0.118	±0.00058
Mn	0.112 ×	±0.008	0.064 ×	±0.000019
Ca	0.57	±0.0002	0.118	±0.00005
Zn	0.002	±0.00005	0.49×	±0.00035
P	0.03	±0.00005	0.03	±0.00003

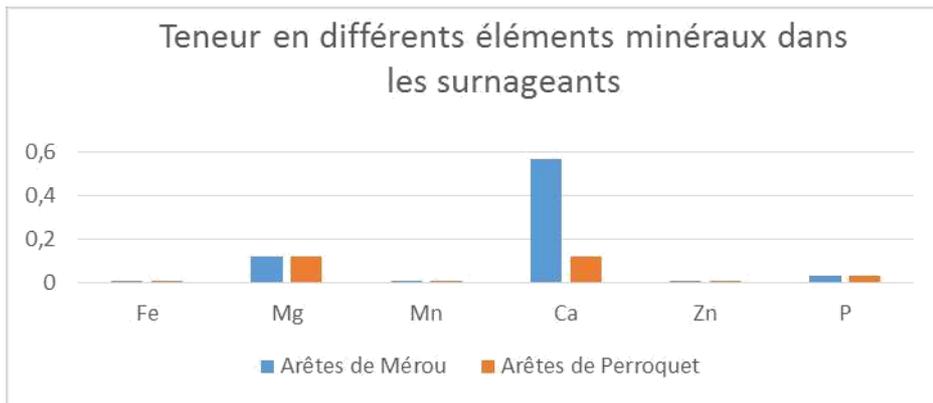


Figure 15 : Teneur en différents éléments minéraux dans les surnageants

Les résultats montrent que les surnageant sont très riches en calcium et possèdent des teneurs peu négligeables en magnésium Par contre, les teneurs en zinc, fer et manganèse sont très minimales.

Tableau 10 : Teneurs en différents éléments minéraux dans les culots exprimées en par 100g de matière fraîche :

Elément	Arêtes de cabot		Arêtes de Perroquet	
Fe	0.007	±0.00001	0.005	±0.0008
Mg	0.22	±0.00003	0.26	±0.00005
Mn	0.37	±0.0002	0.004	±0.00005
Ca	14.086	±0.0006	13.65	±0.00015
P	7.106	±0.0024	6.906	±0.0005
Zn	0.007	±0.000029	0.005	±0.00047

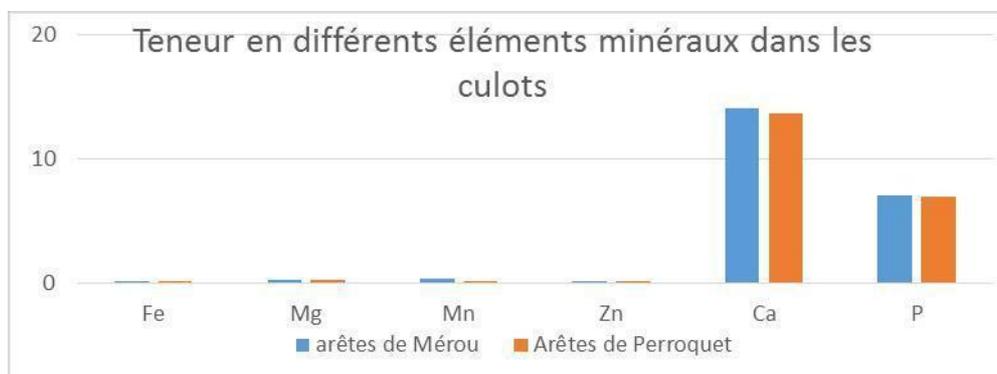


Figure 16 : Teneurs en différents éléments minéraux dans les culots

D'après le tableau 10 et la figure 16, les culots ont une teneur en calcium et phosphore très élevée et une faible teneur en Fer et Zinc.

2.3) Composition en acides aminés dans les deux phases

La composition en acides aminés dans les différentes phases est exprimée dans les tableaux 11 et 12

Tableau 11 : Composition en acides aminés dans les surnageants

Echantillon	Distance	Rf	Acide aminé
SP	3.5	1.51	Trp
	3.5	1.51	Thr
	5.2	1.02	Ileu
	5.4	1.01	Leu
SM	3.5	1.51	Trp
	3.5	1.51	Thr
	5.2	1.03	Ileu

SP : Surnageant de perroquet SM : Surnageant de mérou, CP : Culot de Perroquet CM : culot de mérou

La composition en acides aminés montre que les surnageants contiennent des acides aminés essentiels comme l'isoleucine, le tryptophane et que ces acides aminés sont presque les mêmes dans les surnageant des deux espèces.

Tableau 12 : Composition en acides aminés dans les culots

Echantillon	Distance	Rf	Acide aminé
CP	3.5	1.48	Trp
	3.5	1.48	Thr
	5.3	1.01	Ileu
CM	3.5	1.48	Trp
	3.5	1.48	Trp
	5.3	1.01	Ileu

La présence d'acides aminés essentiels comme la thréonine, l'isoleucine, la leucine et le tryptophane s'observe aussi dans les culots des deux espèces.

2.4) Propriétés fonctionnelles :

Les capacités de rétention d'eau des fractions d'hydrolyses sont exprimées dans le tableau 13 :

Tableau 13 : Capacités de rétention d'eau exprimées par mg/g de fraction

Phase	Arêtes de Mérou	Arêtes de Perroquet
Soluble	0	0
Insoluble	1.36 ±0.5	1.1 ±0.65

On peut voir dans ce tableau que les phases solubles des deux espèces n'ont aucune capacité à retenir l'eau contrairement aux phases insolubles.

Les capacités de rétention d'huile sont représentées dans le tableau 14

Tableau 14 : Capacité de rétention d'huile exprimée en mg/g de fraction

phase	Arêtes de Mérou	Arêtes de Perroquet
Soluble	0	0
Insoluble	1.96 ±0.84	2.1 ±0.7

Les résultats montrent que la phase soluble n'a aucune capacité à retenir l'huile contrairement à la phase insoluble.

DISCUSSIONS

1) Composition biochimique des matières premières

La détermination de la composition biochimique des matières premières a permis de voir les teneurs en différents nutriments des co-produits.

Les résultats montrent que la composition biochimique des co-produits est comparable à ceux des aliments considérés comme importants, riches en nutriments.

Les co-produits sont considérés comme les parties non consommables pourtant, ils ont une forte teneur en lipides, en protéines en éléments minéraux et en vitamines (HEU et *al.*, 2003). C'est pour cela qu'actuellement plusieurs pays du monde comme l'Islande et la Norvège priorisent la valorisation de ces co-produits en passant même à une politique de « 0 rejet ». (IFREMER, 2010)

D'après notre étude, les arêtes de Perroquet ont une teneur en eau de 67.82% qui est supérieure à la teneur en eau dans les arêtes de Mérou qui est de 42,4%. La teneur en matière sèche est proportionnelle à la teneur en eau. Plus la teneur en eau est élevée, plus la teneur en matière sèche est faible.

Les résultats montrent que les arêtes des deux espèces de poissons ont une forte teneur en protéines. Toutefois, la teneur en protéines dans la matière sèche de l'arête de Perroquet (51.4%) est supérieure à celle de l'arête de Mérou qui est de (26.97%). L'arête de Perroquet a une plus forte teneur en protéines que les nageoires d'esturgeon (30.42%). (ANDRIAMIDOSY ; 2016).

Par contre la teneur en lipides des arêtes de Mérou (4.31%) est largement supérieure à celle de Perroquet (0.58%).

La teneur en lipide des muscles de poisson maigre est de 5% et elle est de 25% dans les poissons gras. Les lipides des poissons maigres sont essentiellement constitués de triglycéride (35% des lipides) et phospholipides (65% des lipides) (BODY et *al.*, 1989).

La teneur en lipide moyenne varie entre 5% dans les poissons sauvages et 15% pour les poissons d'élevage. (SHEWFELT, 1981).

Par rapport à ces résultats, on peut dire que les arêtes de Mérou ont une teneur en lipides considérée comme moyenne (4,31%) et les arêtes de perroquet ont une teneur en lipide très faible (0,58%).

Par rapport à la matière sèche, la teneur en substances minérales dans les arêtes de Mérou (49.30%) est supérieure à celle trouvée dans les arêtes de Perroquet (33.93%). Même si la teneur dans ce dernier est inférieure, elle reste quand même très importante parce qu'elle est très supérieure à la teneur en substances minérales dans les nageoires d'esturgeon qui est de 6.83%. (ANDRIAMIDOSY, 2016)

D'après le tableau, les arêtes ont une teneur en élément minéraux très satisfaisante pour une valorisation ultérieure. La teneur en élément minéraux des arêtes de mérou est même supérieure à celle trouvée dans les écailles de poisson (42.46%). (ANDRIANISAINA, 2015).

A travers ces résultats, la valeur nutritionnelle des arêtes de poisson a pu être mise en évidence. L'analyse biochimique de ces arêtes montre une forte teneur en protéines et en élément minéraux et une teneur en lipides dépendante de l'espèce.

2) Hydrolyse enzymatique

L'hydrolyse enzymatique permet de solubiliser la matière et de récupérer les protéines dans la fraction soluble.

Les résultats obtenus vont dépendre des conditions d'hydrolyse et aussi des matériels utilisés lors de la réaction. (SENE. ,2008).



Degré d'hydrolyse

Le degré d'hydrolyse correspond aux nombres de liaisons peptidiques coupées par rapport au nombre d'acide ajouté pour le contrôle de pH. Le résultat est exprimé en pourcentage.

Les degrés d'hydrolyse obtenus lors de l'hydrolyse enzymatique des co-produits sont très élevés par rapport aux résultats obtenus par d'autres études utilisant soit le même enzyme ou autre.

Le degré d'hydrolyse obtenu des nageoires d'esturgeon est de 34.1% (RANDRIAMIDOSY, 2016). Le degré d'hydrolyse des arêtes de perroquet (51.7%) est plus élevé que le degré d'hydrolyse des arêtes de Mérou qui est de 48.2%. Les degrés d'hydrolyse obtenus sont plus élevés par rapport aux résultats obtenus par d'autres études utilisant soit le même enzyme ou autre enzyme.

Avec l'hydrolysate de lactosérum et de caséine, il a été observé que plus le DH est élevé, plus la solubilité est élevée (CHOBERT *et al*, 1998)

Le DH élevé permet d'avoir une bonne solubilité. Cela s'observe aussi sur les DH obtenus dans cette étude. Les arêtes de Perroquet ont une DH plus élevée, sa solubilité en est proportionnelle.



Le rendement

Les rendements des différentes fractions d'hydrolyse des arêtes de perroquet, 36,20% pour la phase soluble et 35,97% pour la phase insolubles sont supérieurs à ceux des arêtes de mérrou, 25,08% pour la phase soluble et 25,63% pour la phase insoluble.

Le rendement de la partie soluble des arêtes de Mérrou (25.08%) est sensiblement égal à celui des nageoires d'esturgeon (26.4%). (RANDRIAMIDOSY, 2016).

Les arêtes de Perroquet a un fort rendement en phase soluble (36.20%) et insoluble (35.97%) par rapport à les arêtes de mérrou et d'autres co-produits étudiés auparavant : 8,96% dans les têtes de crevettes et 26,4% dans les nageoires d'esturgeons (RAZAFINDRAKOTO, 2015 ; RANDRIAMIDOSY, 2016).



Composition biochimique des hydrolysats :

1) Teneur en eau

Les phases insolubles ont une très faible teneur en eau (2,74% pour les arêtes de mérrou et 3,05% pour les arêtes de perroquet). Ce qui leur donne une teneur en matière sèche plus élevée. Les teneurs en eau des surnageants sont beaucoup plus supérieures qu'à celles retrouvées dans les culots. Cela est dû à l'aspect gélifiant des surnageants alors que les culots étaient sous forme de poudre.

Les études effectuées par DUMAY en 2006 sur les co-produits de sardine ont révélé une teneur en eau très élevée en culots soit 91% et faible en surnagent 20%.

Les résultats différents peuvent être dus au fait des différentes méthodes de détermination de la teneur en eau ou aux différents espèces utilisés (lyophilisation, étuvage)

2) Teneur en matières grasses :

Les teneurs en matières grasses dans les arêtes de mérrou et dans les arêtes de perroquet sont plus élevées dans la phase insoluble (7.35% pour les arêtes de Mérrou et 2.36% pour les arêtes de perroquet) que dans la phase soluble qui est de 1.58% pour les arêtes de Mérrou et 0.66% dans le perroquet. Les fractions d'hydrolyse des arêtes de mérrou ont une plus forte

teneur en matières grasses que celle des arêtes de perroquet. Cela s'observe aussi bien dans la phase soluble et insoluble.

Par rapport aux deux phases, la phase insoluble a une plus forte teneur en matières grasses que la phase soluble. Cette teneur élevée en matières grasses rend les hydrolysats très intéressants dans l'alimentation. La teneur en matières grasses dans les culots de mérrou est supérieur à la teneur en matières grasses observée dans les poissons sauvages soit 5% (SHEWFELT, 1981).

3) Teneur en protéines :

Les résultats montrent que par rapport à la matière fraîche, les arêtes de Perroquet ont une plus forte teneur en protéines (54,87% dans la phase soluble insoluble) que les arêtes de mérrou (41,73% dans la phase soluble et 27,68% pour les arêtes de perroquet).

Par rapport aux phases, les phases solubles ont une teneur en protéines plus élevée (41,73% et 54,87%) que la phase insoluble (37,38% et 27,68%). Le cas s'observe aussi bien dans les arêtes de mérrou que dans les arêtes de Perroquet.

Le taux de protéines totales obtenu dans les culots des arêtes Mérrou 27.68% est sensiblement égal au taux de protéines dans les produits laitiers (26%) (IFN, 1997). Les culots des arêtes de perroquet ont une teneur en protéines de 37.38% qui est sensiblement égale au taux de protéine dans les graines de légumineuse. Les surnageants ont une teneur en protéine beaucoup plus élevée que celle des culots, les protéines sont dans la phase soluble du fait de l'action des protéases qui coupent les protéines et leur rend soluble. Ils sont plus riches en protéines que les viandes et les produits laitiers.

La capacité d'absorption d'huile exprime la quantité d'huile directement fixée. Dans l'industrie de transformation de viande, c'est une caractéristique fonctionnelle très importante (SHA et *al.*, 1995 ; Onodenalore et Shahidi, 1996 ; Periago et *al.*, 1998).

La capacité d'absorption d'huile est liée à la taille des protéines, L'absorption d'huile est liée aux réticulations protéiques, plus ces dernières sont grandes, plus l'huile est absorbée (Kinsella, 1976),

La fixation d'huile est aussi due aux chaînes hydrophobes latérales et aux spécificités de l'enzyme (Haque et Mozaffar,1992 ; Periago et *al.* 1998 ;Kristinsson et Rasco 2000) ,

On peut dire que les culots ont une capacité de rétention d'huile importante, exploitable à l'industrie alimentaire.

La capacité d'absorption d'eau est déterminée par la méthode d'excès d'eau qui est facile à mettre en œuvre et fiable (SELMANE, 2010). Cette capacité est nécessaire pour améliorer la texture alimentaire. Le résultat obtenu montre que les culots ont une capacité de retenir l'eau, Ils peuvent être exploités dans l'industrie alimentaire.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Cette étude a permis de se familiariser avec les méthodes utilisées pour la récupération des déchets halieutiques et de constater que les produits de la pêche constituent une source considérable de protéines.

Cette étude a pour but de contribuer à la lutte contre la carence qui règne actuellement dans les pays sous-développés, Madagascar y compris, en valorisant les déchets considérés comme non consommables. La récupération des fractions de biomasse marine habituellement non exploitable se fait par technique d'hydrolyse enzymatique.

L'étude a permis d'en savoir davantage sur les espèces utilisées, de découvrir les techniques utilisées pour la détermination de la composition nutritionnelle, de voir les avantages qu'apporte l'hydrolyse enzymatique et de déterminer les propriétés fonctionnelles de fractions obtenues.

De ces faits, les arêtes de poissons ont alors une teneur en protéine équivalente à celle retrouvée dans les aliments sources de protéine et une teneur en matière grasse assez élevée.

Les hydrolysats ont une teneur en protéines plus élevées que celle retrouvée dans les matières première, en lipides et éléments minéraux très importantes.

L'hydrolyse enzymatique contribue à la valorisation en nutriments des co-produits.

Les arêtes peuvent être utilisées pour la lutte contre les carences en ces nutriments.

Ce travail est loin d'être exhaustif, ainsi nos perspectives portent sur :

- Les études des autres intérêts que peuvent avoir les fractions d'hydrolysat.
- La détermination des différentes substances toxiques contenus dans les fractions d'hydrolysat.
- L'identification des substances microbiennes présentes dans les fractions.
- L'étude de toutes les propriétés des fractions avant une utilisation éventuelle dans l'alimentation.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) ADLER-NISSEN J. 1986: Enzymic hydrolysis of food proteins. *New York: Elsevier, Applied Science Publishers.*: 110-69.
- 2) ANDRIANISAINZ M.L.N.N. 2015 : Potentialité nutritionnelles et propriétés fonctionnelles des hydrolysats protéiques issus des écailles de poissons *Pomadasys sp* .Mémoire pour obtention du diplôme de master II en biochimie appliquée aux Sciences de l'alimentation et à la nutrition : Université d'Antananarivo, Faculté des Sciences ; 50-64p
- 3) AOAC, Official Methods of Analysis of AOAC international, 16th Ed. 1999. ASPOMO SI., HOM SJ, EIJSINK VG. 2005. Enzymatic hydrolysis of Atlantic cod (*Gadus morhua*L.) viscera. *Process Biochem.*, 40 : 1957-1966.
- 4) BARLOW SM. 2003. Fish meal. *In: Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition.* pp. 2486-24933.
- 5) BLOCH., SCHNEIDER. 180. *Epinephelus malabaricus*, Fishbase
- 6) BODY DR, Vlieg P. 1989. Distribution of the lipids classes and eicosapentaenoic (20:5 n-3), docosahexaenoic (22:6 n-3) acids in different sites in blue mackerel (*Scomber australasicus*) fillets. *J. Food Sci.*, 54 : 569-572.
- 7) CHOBERT JM, BERTRAND-HARB C, NICOLAS MG. 1988. Solubility and emulsifying properties of caseins and whey proteins modified enzymatically by trypsin. *J. Agric. Food Chem.*, 36 :883-892.
- 8) CPS, Centre de Surveillance de Pêche : La pêche à Madagascar, Madagascar , Antananarivo
- 9) CUVELLIER G.F. 1999 .Enzymologie et biocatalyse. *Dans Biotechnologie. Paris :Tec et Doc, Lavoisier, Paris* : 319-42.
- 10) DJIBA A. 1992 .Utilisation des déchets de poissons par la technique d'ensilage pour l'alimentation des poissons A intérêt aquacole. Rapport destage pour l'obtention du diplôme de master européen in aquaculture management. Université de Montpellier II, France.
- 11) DUMAY J. 2006 . Extraction de lipides par voie aqueuse par bioréacteur enzymatique combiné à l'ultrafiltration : application à la valorisation de co-produits de poisson (*Sardinapilchardus*). Thèse unique: Sciences de la vie et de la Terre: Université de Nantes
- 12) DUPOND B. Malabar Grouper, France
- 13) F.A.O. 2012. The state of world fisheries and aquaculture. Rome, Italy
- 14) *Food Chem.*, 63 (1) : 71-78.

- 15) FORSSKAL. 1775. *Scarus ghobban*, Word Register of Marine Species
- 16) GILDBERG A.; ARNESN J.A. et CARLEHOG M. 2002 .Utilisation of cod backbone by biochemical fractionation Process *Biochemistry*, 38: 475-48046. Ravallec-Plé R., 2000 .Valorisation d'hydrolysats d'origine marine: optimisation de la concentration en peptides apparentés aux facteurs de croissance et aux agents sécrétagogues. *Thèse de doctorat de l'Université de Bretagne Occidentale*
- 17) GREGOIRE C.2007. Contribution à l'étude de la valorisation des protéines d'hydrolysats obtenues par hydrolyse enzymatique des co-produits Med. Vet: Dakar,p22
- 18) GUERARD F. ; GUIMAS L. et BINET A. 2002 . Production of tuna waste hydrolysates by a commercial neutral protease preparation, *Journal of molecular catalysis B*, **19-20** : 489-498
- 19) GUERARD F., BATISTA I., PIRES C., THORKELSON G., et Le GAL Y., 2004. Repport on sources and selection criteria for raw material. *Rapport établi pour le programme SEAFOODplus.- 57*
- 20) HALL M.G., DA SILVA S.1994. ensilage des déchets de crevettes. infofish international, 2-5
- 21) HALLEREAU S, 2003. Etude de l'hydrolyse enzymatique pour faciliter l'extraction des lipides des co-produits de morue application à l'enzyme Protamex. Rapport de stage de seconde année (stage du 7 avril au 13 juin),
- 22) HAQUE ZU, MOZAFFAR Z. 1992. Casein hydrolysate. II. Functional properties of peptides. *Food Hydrocolloids*, 5 : 559-579.
- 23) IFN. Institut Français pour la Nutrition., 1998. Les protéines – Tome 2 : Caractéristiques des différentes sources de protéines alimentaires. Paris : - Dossier spécifique N°9 bis .
- 24) IFREMER., 2010. La valorisation des coproduits, p.13, 26, 27
- 25) KINSELLA JE. 1976. Functional properties of proteins in foods: a survey. *Crit. Rev. Food Sci.Nutr.*, 8 (4) : 219-280.
- 26) LARBIER M. et LECLERQ B., 1992 .Les matières premières utilisées en aviculture (225 – 301). in : *nutrition et alimentation des volailles*, Paris :INRA 0. Edts. B. Caballero, L. C. Trugo, P. M. Finglas. Academic Press.
- 27) LEDERER J., 1998. Encyclopédie moderne de l'hygiène alimentaire.-Paris:Maloine.-856p.
- 28) MALEWIAK M.I, LEYNAID-ROUAUD, C., BERTHER A.M.,SERVILLE Y.,(1992). Aliments et nutriments in Alimentation et nutrition humaines, Dupin H., Cug J.L., Malewisk M.I, Leynaud-Rouaud C., Berthier A.M., p.87-167. Med. Vet: Dakar; 22
- 29) MERRITT J.H., 1982 .Assessment of the production costs of fish protein hydrolysates. *Anim.*

Feed Sci. Technol., **1**: 147-51.

- 30) NDOYE F.; MOÏTY-MAÏZI P. et BROUTIN c., 2002. Le poisson fumé
- 31) PERIAGO M. JESUS, VIDAL M. LUISA, ROS GUASPAR, RINCON FRANCISCO, MARTINES CARMEN. 1998
- 32) RANDRIAMIDOSY, JEAN-CLAUDE., 2016 . Potentialité nutritionnelles et propriétés fonctionnelles et propriétés fonctionnelles des hydrolysats de nageoires d'Esturgeon « *Acipenser baery* » : Biochimie Fondamentale et appliqués, Antananarivo : Université d'Antananarivo faculté des sciences, p 37-40
- 33) ROSE ELIANE P ., 2007, Contribution à l'étude des protéines d'hydrolysats obtenus par hydrolyse enzymatique des co-produits (tête, visères) de la sole tropicale (*Cynoglossus senegalensis*) au Senegal, Thèse de doctorat : Faculté des Medecines de pharmacie et d'Ondoto-stomatologie, P15-36
- 34) ROSSIGNOL CA. 1998. Un préliminaire important : l'extraction analytique des lipides. *OCL*, 5(4) : 301-307.
- 35) SATHIVEL S., BECHTEL P.J., BABBITT J., SMILEY S., CRAPO C., REPPOND K.D., PRINYAWIWATKUL W. (2003). Biochemical and functional properties of herring (*Clupea harengus*) by-product hydrolysates. *Journal of Food Science*, 68: 401 – 406.
- 36) SHAHIDI F.; HAN X. et SYNOWIECKI J., 1995. Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). *Food Chem.*, **53**: 285-93.
- 37) SHAHIDI F., HANG XQ., SYNOWIECKI J. 1995. Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). *Food Chem.*, 53 : 285-293.
- 38) SHAHIDI F, KAMIL JYV. 2001. Enzymes from fish and aquatic invertebrates and their application in the food industry. *Trends in Food Sci. & Technol.*, 12 : 435-464.
- 39) SHWEFELT R.L. 1981. Fish muscle lypolysis – A review. *J. Food Biochem.*, 5 : 79-100.
- 40) ŠLIZYTE R.; DAUKSAS E.; FALCH E.; STORRO I. et RUSTAD T., 2005. Characteristics of protein fractions generated from hydrolysed cod (*Gadus morhua*) by-products. *Process Biochem.*, **40**: 2021-33
- 41) SUZANE P. 1998. Nouveau procédé de traitement des déchets à bord: lessnekkar prennent de l'antirides. *ECOPECHE*, **4**: 41
- 42) TENING SENE. 2008. Contribution à l'étude des co-produits de la Sole tropicale (*Cynoglossus senegalensis*) après hydrolyse enzymatique, Thèse de doctorat : Science Biologiques et productions animale : Université Cheikh Anta Diop de Dakar Faculté des Medecine, de pharmacie et d'ondoto-stomatologie, p11-30

- 43) WOLFF J.P. 1998. Analyse et dosage des lipides in Techniques d'Analyse et de Contrôle dans les Industries Agroalimentaires, Multon J.L., 2e édition, p.157-199.
- 44) ZHAO QY., SANNIER F., PIOT JM. 1996. Kinetics of apperance of four hemorphins from bovine hemoglobin peptic hydrolysates by HPLC coupled with photodiode array. *Biochimica et biophysica Acta*, 1295: 73-80

WEBOGRAPHIE:

ww.w-safari.com/zone_type_de_pêche_a_madagascar.

<http://www.chups.jussieu.fr/polys/biochimie/DGbioch/poly.Chp.7.4.html>

www.chu-ruen.fr/page/mesh-descripteur/activeurs

www.fishbase.org/summary/5548

ANNEXE 1 : Appareils pour les analyses physico-chimiques



Spectre d'absorption atomique



Minéralisateur



Four



Distillateur



Rotavapor



Appareil Soxhlet

ANNEXE 2 : Titration de protéine à l'acide



ANNEXE 3 : Neutralisation de l'échantillon par filtration



ANNEXE 4 : Hydrolyse enzymatique



ABSTRACT

This work part of valorization of the by-products resulting from the transformation of meru (*Epinephelus malabaricus*) and perroquet (*Scarus ghobban*). The co-products used are constitutes by the edges. The valorization of these by-products is a way to reduce the risk of their spreading to the environnement and to fight the deficiency in various nutriments that happens in several contries. The technique used for the valorization of these co-products is enzymatic hydrolysis. The enzyme used is pepsin. The hydrolysate is centrifuged. After centrifugation, two phases are recovered: a soluble phase and insoluble fraction. The enzymatic hydrolysis shows a degree of hydrolysis of 48.2% for the edges of meru and 51.7% for the edges of perroquet. The analysis shows that raw material has a protein content which is 16.46% for the edges of perroquet and 16.42% for edges of meru, very large high calcium content (2.67% and 10.78%). The protein content in the hydrolysate fractions increased by more than 40% compared to the fresh materials. The fractions of hydrolysate of the edges of meru have a very high fat content (7.37% for the insoluble phase and 1.85% for the soluble phase). The fractions have a very high calcium content (14.08% for the pellet of meru and 13.65% for the perroquet pellet), not negligible phosphorus and magnesium contents. The presence of essential amino acids like threonine, isoleucine and leucine is observed.

In view of these results, the by-products of meru and perroquet contain enough protein to be valued in both human and animal feed.

Keywords: Valorization, by-products, *Epinephelus malabaricus*, *Scarus ghobban*, Madagascar, Enzymatic hydrolysis.

Author : RASOANALY Uana Jenna

Reporter : Dr RANDRIAMAHATODY Zo

Co-reporter : Pr RAZAMPARANY Louissette

RESUME

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des co-produits issus de la transformation de mérrou (*Epinephelus malabaricus*) et perroquet (*Scarus ghobban*). Les co-produits utilisés sont constitués par les arêtes. La valorisation de ces co-produits est un moyen de diminuer les risques de leur propagation dans l'environnement et de lutter contre la carence en divers nutriments qui règne dans plusieurs pays. La technique utilisée pour la valorisation de ces co-produits est l'hydrolyse enzymatique. L'enzyme utilisée est la pepsine. L'hydrolysats subit une centrifugation, deux phases sont récupérées : une phase soluble et une phase insoluble. L'analyse biochimique a été faite dans la matière première ainsi que dans les fractions d'hydrolyse. L'hydrolyse enzymatique montre un degré d'hydrolyse de 48.2% pour les arêtes de mérrou et de 51.7% pour les arêtes de perroquet. L'analyse montre que les matières premières ont une teneur en protéines qui est de 16.46% pour les arêtes de perroquet et de 16.42% pour les arêtes de mérrou, une teneur en lipides très importantes (4.31% et 0.58%). La présence des acides aminés essentiels est observée et une très forte teneur en calcium (2.67% et 10.78%). La teneur en protéines dans les fractions d'hydrolysats des arêtes de mérrou ont une teneur en matières grasses de 7.37% pour la phase insoluble et 1.58% pour la phase soluble. Les fractions ont une très forte teneur en calcium (14.08% pour le culot de mérrou et 13.65% pour celui de perroquet), peu négligeable en phosphore et magnésium et la présence d'acides aminés essentiels comme la thréonine, isoleucine et leucine est observée.

Compte tenu de ces résultats, les co-produits de mérrou et de perroquet contiennent suffisamment de protéines pour être valorisés tant en alimentation humaine qu'animale.

Mots-clés : Valorisation, co-produits, *Epinephelus malabaricus*, *Scarus ghobban*, Madagascar, hydrolyse enzymatique.

Auteur : RASOANALY Uana Jenna

Encadreur : Dr RANDRIAMAHATODY Zo

Co-encadreur : Pr RAZANAMPARANY Louissette