
Recherche d'une méthode d'attendrissement de la chair d'amande de mer

R A P P O R T D E S T A G E

RECHERCHE D'UNE MÉTHODE D'ATTENDRISEMENT
DE LA CHAIR D'AMANDE DE MER

Yannick PINEAU

mai - juin 1988

Je tiens à remercier mon maître de stage Monsieur VALLET, pour la confiance qu'il m'a accordé, ainsi que Messieurs CHANTREAU et KNOCKAERT, et toute l'équipe du service U.V.P. qui ont su rendre ce stage intéressant et, je le crois, réussi.

Je remercie enfin, Mademoiselle LE GOUALLEC, pour la retranscription de ce rapport.

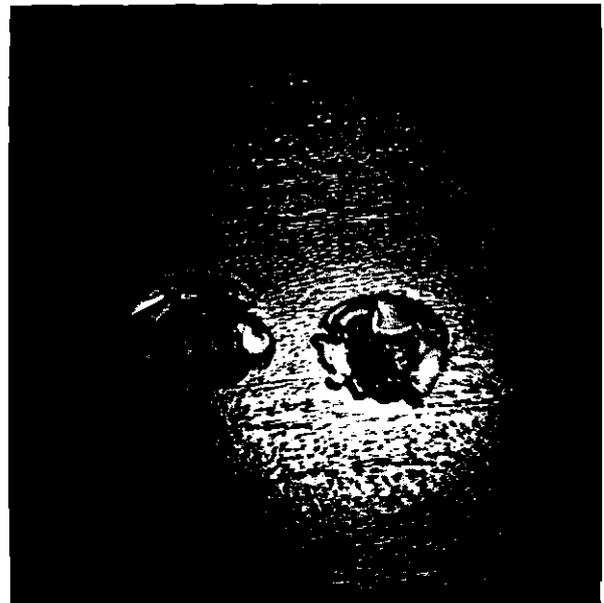
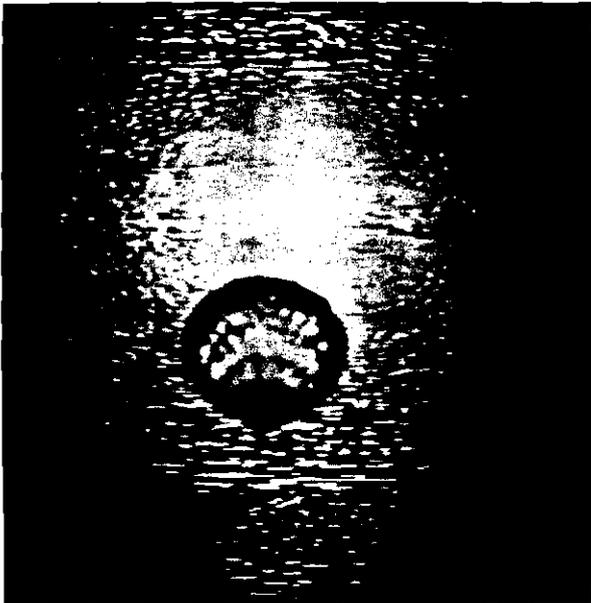
Yannick PINEAU

I.F.R.E.M.E.R.

2^{ème} année DUT Biologie Appliquée

(option : IAA)

RECHERCHE D'UNE METHODE D'ATTENDRISEMENT
DE LA CHAIR D'AMANDE DE MER



MAI / JUIN 1988

SOMMAIRE

* INTRODUCTION

* I.F.R.E.M.E.R. : ORGANISATION ET VOCATION

PARTIE I : L'AMANDE DE MER

I- GENERALITES SUR LES BIVALVES

II - L'AMANDE DE MER : CARACTERISTIQUES

III - PROBLEME DE FERMETE : LE PIED

A - Histologie du muscle

B - Composition chimique du muscle

PARTIE II : METHODES D'ATTENDRISEMENT

I - ATTENDRISEMENT MECANIQUE

II - UTILISATION D'ADDITIFS : LES POLYPHOSPHATES

III - ATTENDRISEMENT PAR VOIE ENZYMATIQUE

IV - METHODES DE MESURE DE LA TEXTURE

PARTIE III : ETUDE EXPERIMENTALE

I - MATERIEL ET METHODES

A - Matériel de mesure

B - Manipulations et traitements :

1 - Composition protéique du muscle

2 - Technique d'attendrissement par les polyphosphates

3 - Technique d'attendrissement par voie enzymatique

II - RESULTATS ET DISCUSSION

A - Teneurs en protéines du muscle

B - Résultats des traitements par les polyphosphates

C - Résultats des essais d'attendrissement enzymatique

CONCLUSION

* ANNEXES

* BIBLIOGRAPHIE

INTRODUCTION

L'I.F.R.E.M.E.R. (Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer) a mis en évidence dernièrement, des ressources abondantes de petits bivalves sur les côtes bretonnes et de Basse-Normandie. Près de 20 000 tonnes de palourdes roses, spisules et amandes de mer, sont annuellement exploitables sur ces côtes.

Certains bivalves sont habituellement exploités, et cela depuis des décennies : coquilles St Jacques et praires. Une pêche excessive a causé une dégradation du stock de ces bivalves qui constituent encore l'activité essentielle de nombreuses unités de pêche artisanale. L'épuisement du stock et l'absence de recrutement notable chez ces bivalves, et après la mise en évidence de stocks importants d'autres espèces, l'exploitation des palourdes roses, spisules et amande de mer, bivalves sous-exploités ou encore inexploités, représentent donc un important intérêt régional et économique.

L'Amande de Mer, déjà quelque peu exploitée, pourrait représenter une solution intéressante au niveau exploitation et commercialisation, mais sa qualité gastronomique moyenne en limite les débouchés. C'est en effet un problème de fermeté du corps de ce mollusque qui en fait un coquillage difficilement accepté et très peu consommé. Pour lancer son exploitation et sa commercialisation, il faudra tenter d'attendrir la chair de ce mollusque pour en faire un aliment acceptable.

L'étude et la recherche d'une méthode d'attendrissement de la chair d'Amande de Mer n'en sont qu'à leur tout début. L'objectif de ce stage de 7 semaines, effectué au sein du département "Utilisation et Valorisation des Produits" à l'I.F.R.E.M.E.R. de Nantes, est de lancer cette étude, de rechercher les pistes possibles pour attendrir la chair de ce mollusque, d'orienter les recherches qui feront l'objet d'études plus approfondies par la suite.

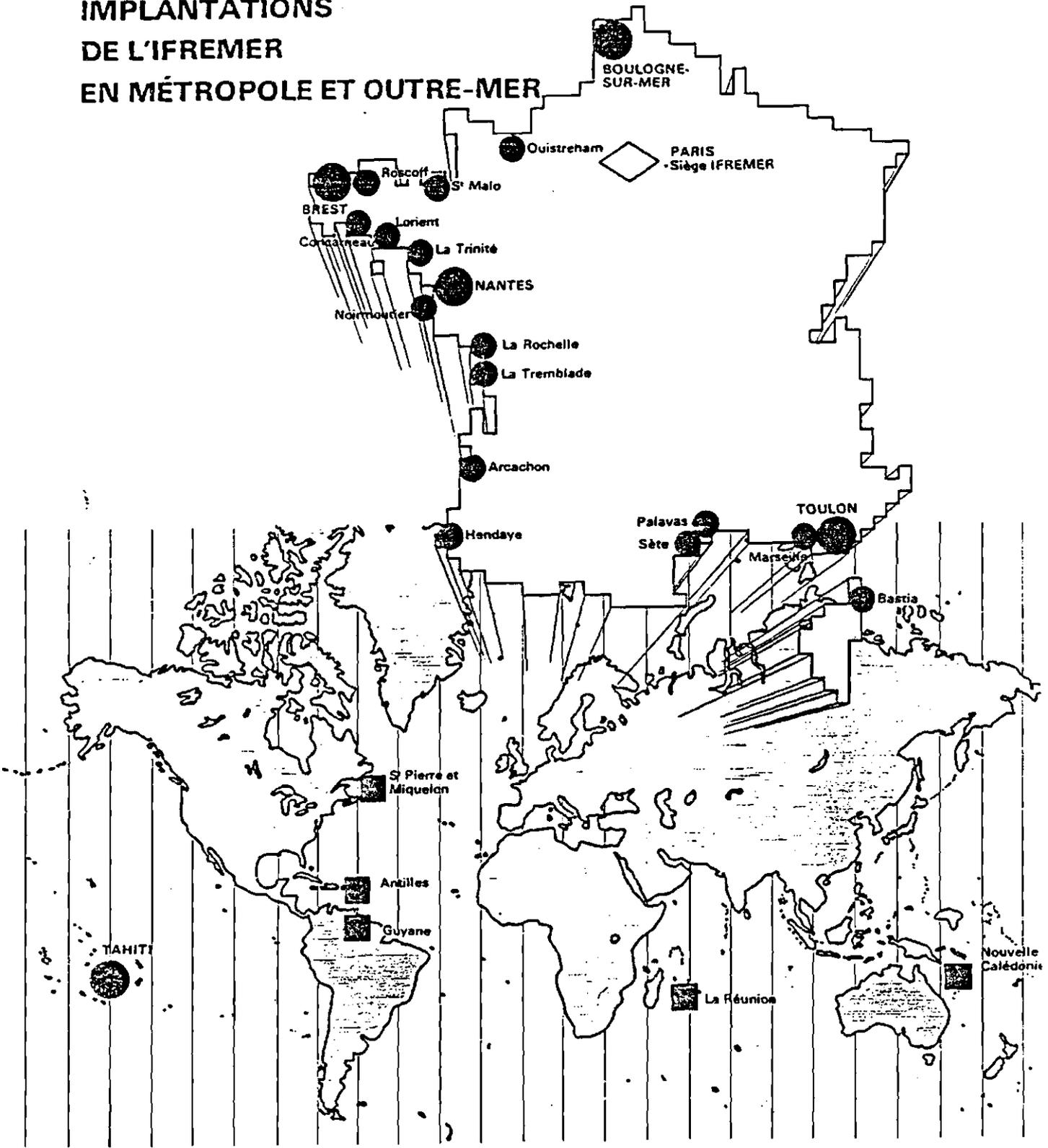
Ce rapport est donc essentiellement une pré-étude bibliographique et technique devant donner lieu à un éventuel programme plus vaste.

Le premier travail effectué aura été une meilleure connaissance de la conformation et de la composition de cet animal marin, avant de s'intéresser au problème de fermeté et aux méthodes d'attendrissement qui pourraient être envisagées.

Au niveau de ces méthodes d'attendrissement, rien de connu, jusque là, n'a été effectué au niveau de la chair de mollusques (excepté sur les ormeaux). Les seules applications effectuées aujourd'hui, le sont au niveau de la viande. Le travail durant ce stage a donc été de rechercher les méthodes d'attendrissement appliquées à la viande et de voir si celles-ci sont applicables pour agir de la même manière sur la chair de mollusques.

FIGURE 1

IMPLANTATIONS DE L'IFREMER EN MÉTROPOLE ET OUTRE-MER



-  PARIS
Siège IFREMER
-  centre
-  station rattachée
-  délégation

I.F.R.E.M.E.R. : ORGANISATION, VOCATION
--

Créé par le décret du 5 juin 1984, l'Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer est né de la fusion de l'I.S.T.P.M. (Institut Scientifique et Technique de Pêches Maritimes) et du C.N.E.X.O. (Centre National pour l'Exploitation des Océans).

Il est un établissement public à caractère industriel et commercial, dépendant du ministère chargé de la Recherche et de l'Enseignement Supérieur ainsi que du secrétariat d'Etat à la Mer.

La mission de l'I.F.R.E.M.E.R. est de "conduire et de promouvoir des recherches fondamentales et appliquées, et des activités de développement technologique et industriel, destinées à :

- connaître, évaluer et mettre en valeur les ressources des Océans et à rationaliser leur exploitation,
- améliorer la connaissance et les méthodes de protection et de mise en valeur de l'environnement marin,...
- favoriser le développement socio-économique du monde maritime."

Le siège de l'I.F.R.E.M.E.R. se trouve à Paris. Ses principaux centres sont implantés à Brest, Nantes, Boulogne-sur-mer, Toulon et Tahiti, tels que nous le montre la figure I.

Les programmes de l'I.F.R.E.M.E.R. sont menés au sein de trois grandes directions de l'établissement :

- La direction des ressources vivantes qui s'occupe du contrôle et du suivi des ressources halieutiques et aquacoles, de l'étude du développement et d'aménagement, des technologies

de production et valorisation des produits de la mer.

- La direction de l'Ingenierie et de la technologie qui couvre les domaines d'intervention suivants : technologies des pêches, technologie navale, ouvrages en mer, intervention sous-marine,...
- La direction de l'environnement et des recherches océaniques qui s'occupe de l'environnement littoral, géosciences marines, environnement profond, océanographie physique.

Le département Utilisation et Valorisation des produits (UVP) placé sous la Direction des Ressources Vivantes a pour mission de mener à bien :

- les recherches amont portant sur la transformation des produits de la pêche et des cultures marines, depuis leur production jusqu'à l'état de produit fini, et le développement de nouvelles techniques de valorisation des animaux marins et des algues,
- la conduite de projet de faisabilité technique et économique en collaboration avec le secteur professionnel,
- le soutien scientifique et l'appui technique à la profession et à l'administration.

PARTIE I :

L'AMANDE DE MER



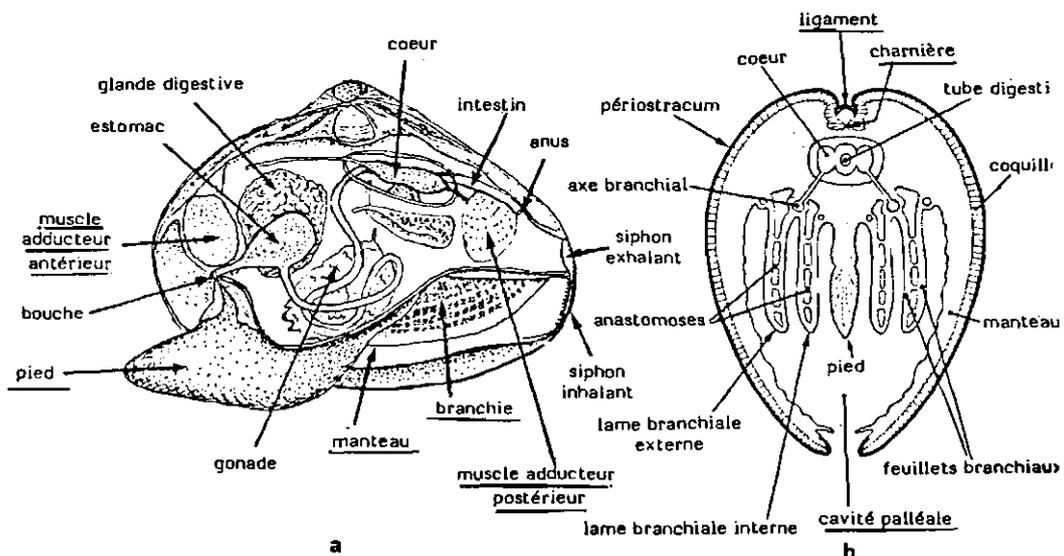
I - GENERALITE SUR LES BIVALVES

Les bivalves sont des mollusques aquatiques à symétrie bilatérale, caractérisés par une coquille composée de deux valves calcifiées qui recouvrent les cotés droit et gauche du corps. Les deux valves sont normalement, et comme dans le cas de l'amande de mer, également convexes (coquille équivalve), mais peuvent chez certaines espèces, différer l'une de l'autre en taille et en forme. L'articulation des valves est assurée par un dispositif composé d'une charnière et d'une structure élastique : le ligament. La coquille s'ouvre sous l'action du ligament et est fermée par contraction des muscles adducteurs (deux chez l'amande de mer).

Le corps des bivalves, généralement mou, est enveloppé par un manteau.

Le pied, organe musculueux ventral mobile, permet la locomotion (fouissage) du mollusque.

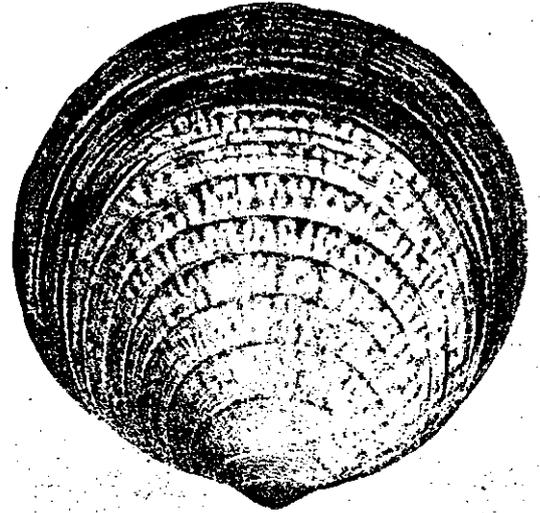
De nombreux bivalves possèdent une paire de branchies respiratoires lamelleuses (lamellibranches) qui participent avec le pied à la collecte de la nourriture par création d'un courant d'eau dans la cavité palléale.



II - L'AMANDE DE MER : CARACTERISTIQUES

L' amande de mer est un bivalve de la famille des Glycymerididae, Appelée Glycymeris glycymeris que l'on peut trouver dans la littérature sous l'ancien nom de Pectunculus glycymeris

Elle possède une coquille quasi-circulaire, équivalve, épaisse, close, à charnière formée d'un grand nombre de petites dents. Sa coloration est rouge pâle réhaussée de dessins bruns, ou rouges; quand elle est fraîche on remarque à la surface une sorte d'épiderme velouté masquant la coloration de la coquille.

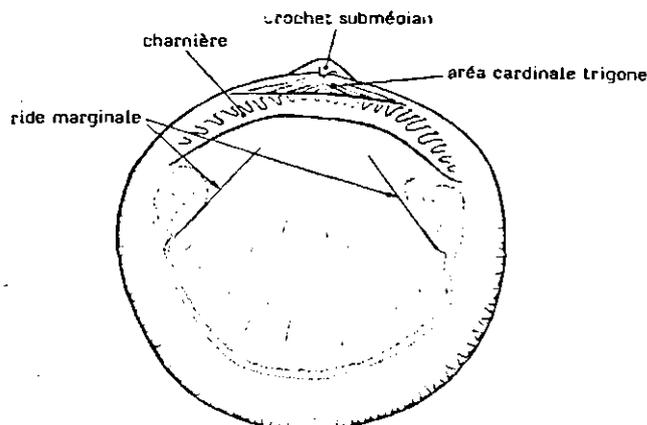


Elle peut atteindre 7 à 8 cm.

On trouvera l'amande de mer enfouie sous des surfaces de sable, de vase ou de graviers jusqu'à des profondeurs de - 80 mètres.

Au niveau distribution géographique, ce mollusque bivalve occupe principalement les côtes de l'Atlantique, de la Méditerranée, de la Manche et de la Mer Baltique.

"Amande de Mer" est le nom qui lui est donné sur les côtes bretonnes, mais on peut la trouver sur le littoral Atlantique sous le nom d'"amande" en Charentes, d'"Amande du large" à Arcachon ou encore en Méditerranée sous le nom de "Voveau" à Marseille ou de "Clovisse Rouge" à Alger.



III - UN PROBLEME DE FERMETE : LE PIED

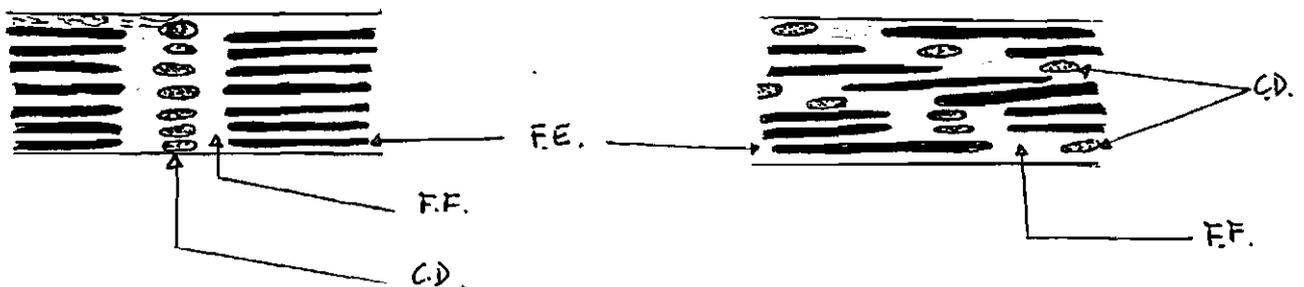
C'est cet appareil de locomotion de l'Amande de Mer, le pied, qui présente une texture excessivement ferme et caoutchouteuse, et qui fait de ce mollusque un produit alimentaire difficilement acceptable et difficilement accepté. Ce problème de fermeté n'est pas dû, comme dans le cas de la viande ou du poisson, à un phénomène biochimique Post-Mortem (phénomène de "Rigor Mortis") mais est dû à la composition même du muscle. Elle est un phénomène permanent.

A - Histologie du muscle :

Comparablement aux muscles des vertébrés, les fibres musculaires sont composées de filaments épais (FE) et de filaments beaucoup plus fins (FF), mais arrangés différemment.

On peut d'ailleurs observer deux types de fibres musculaires suivant l'arrangement de ces filaments comme le montre la figure ci-dessous.

La strie Z n'apparaît pas mais on observe des corps denses (CD) dans lesquels pénètrent de nombreux filaments fins.



Protéines de structure :

(d'après des données bibliographiques générales)

Ces myofibrilles ou myofilaments sont composés de trois protéines dites de structure ou myofibrillaires : l'Actine, la myosine et la Tropomyosine A et B.

Les filaments fins seraient des myofilaments d'Actine et les filaments épais de Tropomyosine A appelée aussi paramyosine, qui représente la protéine de structure la plus importante, soit 20 % des protéines totales du muscle.

La myosine entourerait les filaments de Tropomyosine A, et la Tropomyosine B serait associée aux filaments fins d'Actine. Ces protéines de Structure ne sont pas les seuls composants protéiques du muscle. Le muscle est en effet composé de trois grandes fractions protéiques :

- * les protéines du Stroma : protéines du sarcolemme...
- * les protéines myofibrillaires : ou de structure que nous venons de citer,
- * et les protéines sarcoplasmiques : la myoglobine et autres protéines solubles.

B - Composition chimique du muscle :

La composition moyenne du muscle d'un mollusque est la suivante :

- eau : 70 à 80 %
- protéines : 10 à 15 %
- Lipides : 2 à 5 %
- cendres : 1 à 1,5 %

Cette composition est une moyenne. Elle peut varier d'une manière relativement importante suivant l'espèce, la famille, l'âge de l'animal, ainsi que pour un même mollusque, suivant son état physiologique et la saison, comme nous le montrent les figures 17, 20 et 21 dans le cas de la moule et du clam, page suivante.

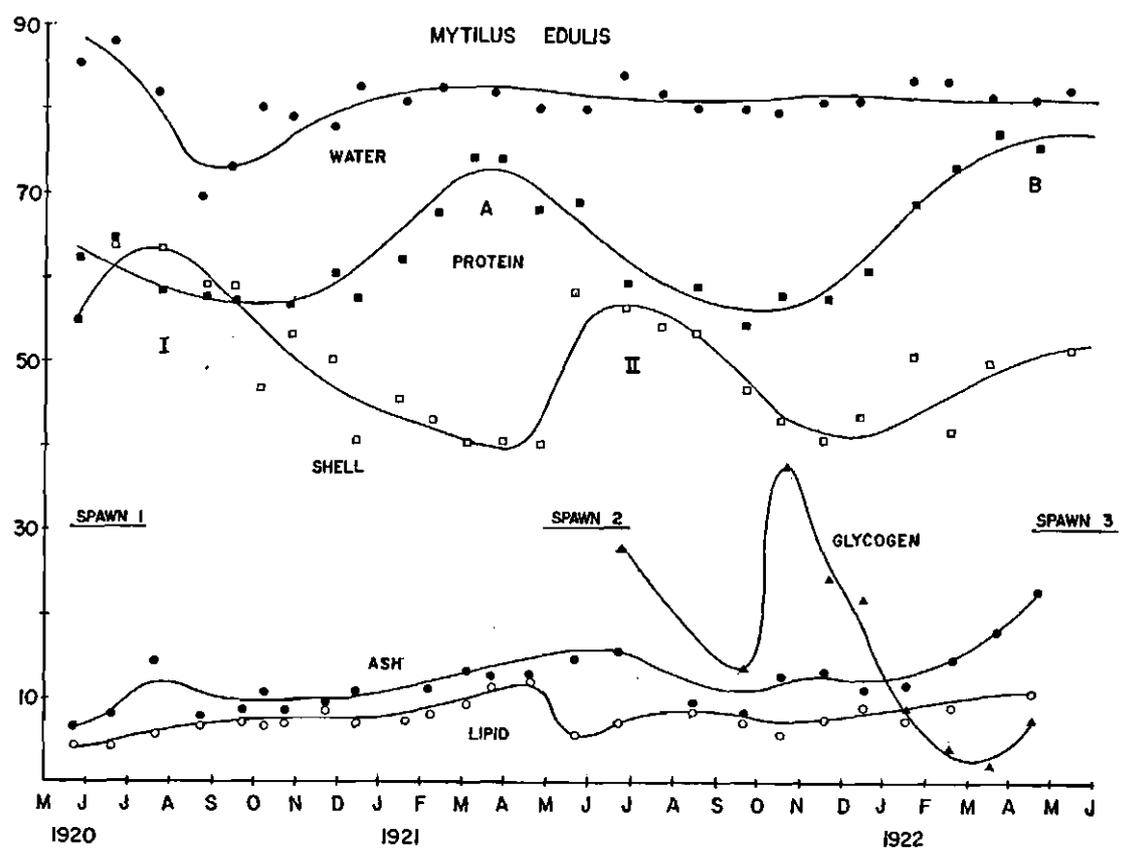


Fig. 17.—Shell index and water (in % of wet weight), protein, lipid, glycogen and ash levels (in % of dry weight) of the soft body mass in the mussel *Mytilus edulis* (data from Daniel, 1923).

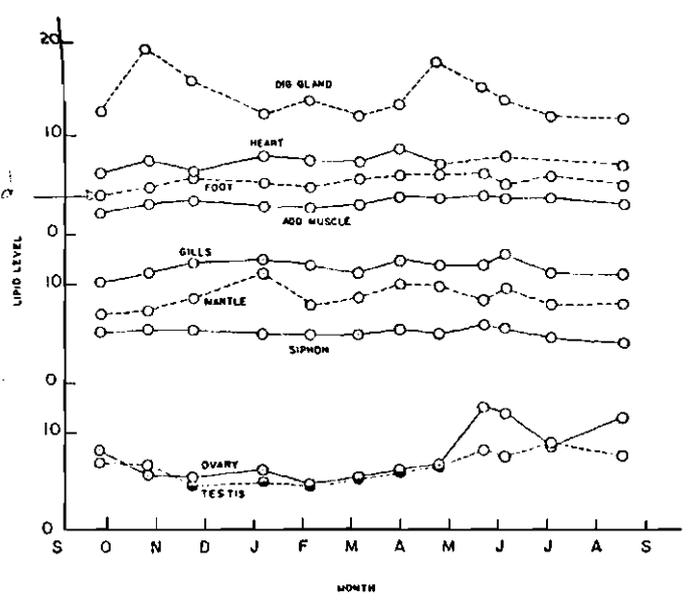
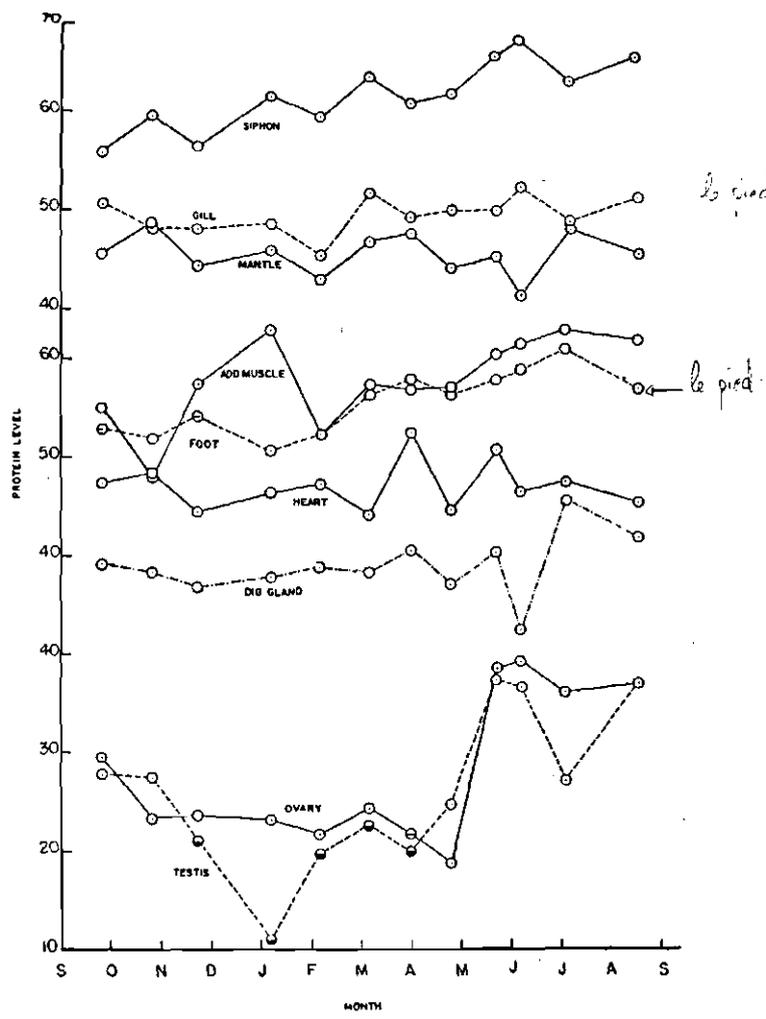


Fig. 21. (above)—Lipid levels (% lipid per unit dry weight) in body components of *Tivela stultorum* for the year 1965-1966; the half dark circles in the data for the testis are for indeterminate gonads; data are averages of two determinations on mixed (equal) samples from 10 individuals monthly (from Giese, Hart, Smith and Cheung, 1967).

Fig. 20. (left)—Protein levels (% protein per unit dry weight) in body components of *Tivela stultorum* for the year 1965-1966; the half dark circles in the values for the testis are for indeterminate gonads; the low value in January was re-checked and is unexplained; values are averages of two determinations on mixed (equal) samples from 10 individuals each month (from Giese, Hart, Smith and Cheung, 1967).

* clam

Ce qui nous intéressera principalement est la composition protéique du muscle. D'après la figure 17, cette composition subit, au cours des saisons, une variation cyclique, avec un maximum (70 % du poids sec) au mois d'Avril et un minimum (58 % du poids sec) au mois d'Octobre, à l'Automne.

Composition chimique de deux mollusques

le Clam :

	"body (1) component index"	protéines (2)	NPN (2)	Lipides (2)	carbohy- drates (2)	cendres (2)	eau
- Manteau	7,14	45,4	3,1	8,8	20,9	5,1	76,0
- opercule	2,0	49,3	1,2	11,8	4,8	5,9	77,9
- muscles adducteurs	9,2	57,5	2,6	3,4	12,2	5,8	70,1
- pied	16,5	54,9	2,9	5,5	3,6	-	74,8
- intestin	13,9	19,3	-	5,6	49,0	-	65,6

la moule :

	"body (1) component index"	protéines (2)	NPN (2)	Lipides (2)	carbohy- drates (2)	cendres (2)	eau
- Manteau	38,4	58,0	2,5	12,4	4,8	4,2	74,4
- Adducteurs	2,7	61,2	2,8	3,7	19,3	3,7	73,6
- opercule	5,2	51,4	0,4	7,7	2,7	4,3	78,48
- pied	0,6	63,3	2,3	7,4	3,6	2,9	74,5

(1) "body component index" = $\frac{\text{poids humide de la partie}}{\text{poids humide de l'animal}} * 100$

(2) valeurs en % du poids sec Total.

Pour les principales protéines du muscle, collagène et protéines myofibrillaires, les teneurs dans le pied, la partie viscérale et le muscle operculaire, sont les suivantes :

	collagène		protéines myofibrillaires	
	(1)	(2)	(1)	(2)
- pied	0,8	45	4	22
- viscérale	0,9	5	8	45
- opercule	5	34	5	30

(1) valeurs en % du poids sec.

(2) valeurs en % des protéines Totales.

PARTIE II :

METHODES D'ATTENDRISSEMENT

I - ATTENDRISSMENT MECANIQUE :

Déjà largement appliquées à la viande, les méthodes d'attendrissement mécanique ont déjà trouvé des applications au niveau des mollusques. On peut citer en effet l'attendrissement des ormeaux par battage, ce qui cause une dénaturation de la structure du muscle et un ramollissement de la texture.

Cependant, des méthodes d'attendrissement mécanique restent difficilement applicables au mollusque qui nous intéresse, en raison de la trop petite taille de l'Amande de Mer et de l'hétérogénéité de la pièce. L'orientation vers une méthode mécanique pour tenter d'améliorer la texture de l'Amande, n'aura pas été envisagée durant ce stage, qui aura porté essentiellement sur un attendrissement par voie enzymatique.

II - UTILISATION D'ADDITIF : LES POLYPHOSPHATES

Définition : Les polyphosphates sont des chaînes linéaires ou ramifiées de groupements phosphates :

Ce sont des composés hydrosolubles, hydrolysables, ayant un fort pouvoir dispersant.

Additifs déjà très largement utilisés dans l'Industrie Agro-Alimentaire sous le code E 450, ils sont utilisés essentiellement en tant qu'agents anti-bactériens et en tant qu'agents de texture.

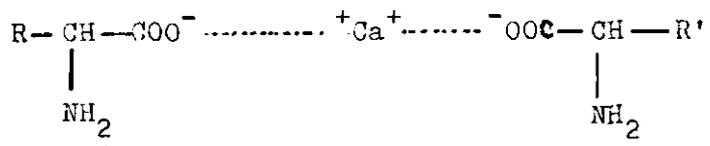
Action des polyphosphates :

On s'intéressera ici uniquement à l'utilisation de ces additifs en tant qu'agents de texture.

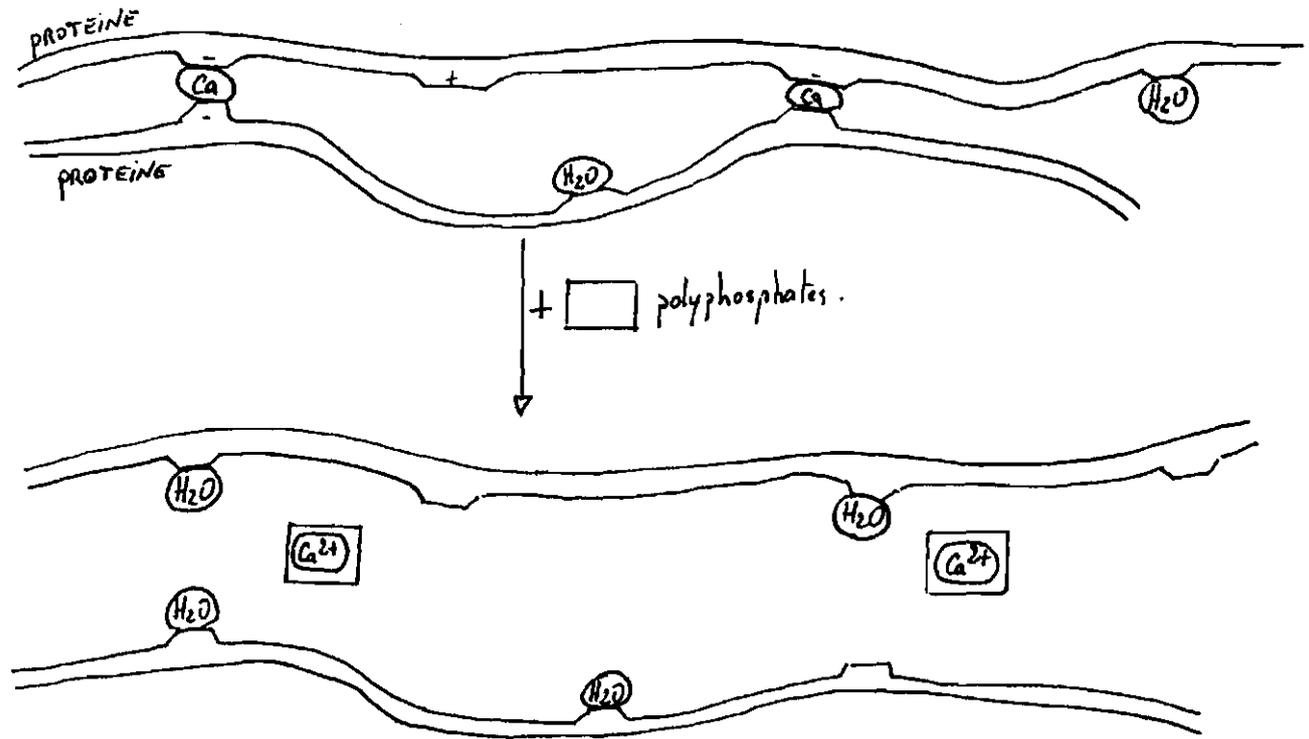
Jusque-là, appliqués essentiellement au niveau de la viande, les polyphosphates ont deux modes d'action : premièrement une action sur le Pouvoir de Rétention d'Eau (PRE) et deuxièmement une action directe sur les protéines du muscle.

* augmentation du PRE :

Il existe différents types de liaisons entre protéines : électrostatiques, ioniques, ponts diSulfure (-S-S-) et des liaisons dues à des cations divalents tels que Ca²⁺, Mg²⁺, qui forment des ponts entre les groupements carboxyles des protéines :



Les polyphosphates en complexant les cations, vont rompre ces liaisons, ces ponts interchaîne, provoquant un écartement des chaînes peptidiques, une structure plus "ouverte" et une augmentation du Pouvoir de Retention d'Eau.



* solubilisation des protéines :

Cette même propriété de complexation d'ions, tels que Ca^{2+} , par les polyphosphates va jouer un rôle à un deuxième niveau (du moins pour ce qu'on connaît au niveau de la viande et du poisson) : au niveau du muscle, la contraction musculaire résulte d'une complexation des molécules protéiques d'Actine et de myosine en Actomyosine qui ne peut avoir lieu qu'en présence d'ATP et d'ions Ca^{2+} .

Les polyphosphates en complexant ces ions Ca^{2+} provoquent la scission de l'Actomyosine en Actine et Myosine, dont les solubilités sont supérieures à celle de l'Actomyosine et provoquent ainsi le relachement du muscle.

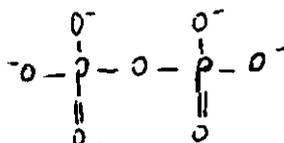
Ceci est applicable aux muscles de poisson et à la viande. La structure du muscle des mollusques étant différente, l'efficacité de ces polyphosphates sur le muscle de ces derniers reste à prouver.

Utilisation :

Les polyphosphates les plus couramment utilisés comme agents de texture sont les pyro-, les tri- et les tétra-polyphosphates et principalement les pyrophosphates dont l'efficacité est la meilleure.

* pyrophosphates :

Ce sont les chaînes de phosphates les plus courtes, c'est à dire à deux groupements phosphates :



Les différents pyrophosphates utilisés pour l'attendrissement de viande sont les suivants :

	formule	% P ₂ O ₅	pH en solution 1%
pyrophosphate disodique	Na ₂ H ₂ P ₂ O ₇	64 %	4 - 4,3
pyrophosphate tétra sodique	Na ₄ P ₂ O ₇	53,4 %	10 - 10,5
pyrophosphate tétra potassique	K ₂ P ₂ O ₇	43,2 %	10,3

Etant assez peu solubles, à ces pyrophosphates sont souvent substitués tri- ou/et tétra-polyphosphates lorsqu'ils sont utilisés en solution à froid.

* doses autorisées :

Les polyphosphates n'étant utilisés jusque là qu'au niveau de la viande, on ne trouve pas d'autorisation d'utilisation des polyphosphates dans les produits de la mer.

Au niveau de la viande, les doses autorisées, exprimées en doses résiduelles dans le produit, sont de :

0,2 à 0,3 % en P₂O₅
soit 0,3 à 0,5 % en polyphosphates.

Applications :

Différentes solutions de polyphosphates et de sels peuvent être

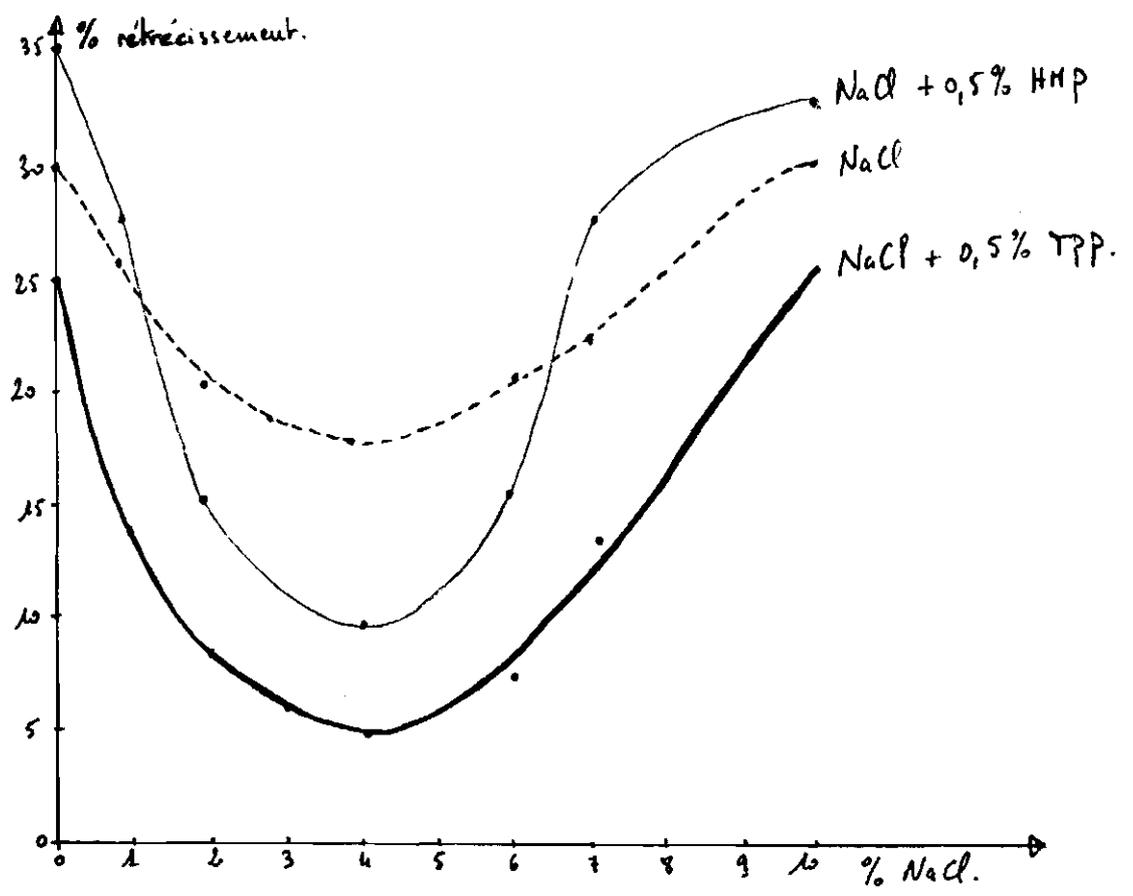
utilisées pour l'attendrissement de la viande. Le tableau suivant donne l'attendrissement significatif de quelques solutions à travers la mesure des forces de cisaillement et d'étirement, ces deux forces exprimant deux caractères différents de la texture : respectivement fermeté et élasticité, forces dont nous reparlerons dans le chapitre suivant.

	cisaillement (I)	étirement (I)
H : Sodium Hexa métaphosphate	* *	-
M : MgCl ₂	*	*
P : Pyrophosphates de sodium	*	*
P + H	* *	* *
M + H	* *	-
P + M	*	* *
Citrate de Sodium	* *	-
M + P + H	-	-

(I) : * p 0,05 ** p 0,01

Il apparait donc à travers ce tableau que l'avantage des pyrophosphates comparé à un polyphosphate tel que l'Hexamétaphosphate de sodium est son action simultanée sur les deux caractères de la texture d'un produit : fermeté et élasticité, alors que l'Hexamétaphosphate (HMP) n'a pas d'action sur l'élasticité. On peut noter de plus l'action significative des sels sur la texture et l'effet additif ou de synergisme lorsqu'il (Mg Cl₂) est additionné aux pyrophosphates, alors que cet effet n'apparait pas avec l'HMP.

Il a été étudié aussi l'effet de l'addition d'un autre sel, le chlorure de Sodium, à des polyphosphates sur le pourcentage de rétrécissement d'un muscle. Les résultats sont exprimés sur les courbes suivantes.



Na Cl seul a déjà une action nette sur l'état du muscle, sur le pourcentage de rétrécissement en le diminuant et a donc un effet de ramollissement sur la structure du muscle. Cet effet est accentué par l'addition du sel à des polyphosphates, notamment aux TriPolyphosphates (TPP). Ainsi une solution de TriPolyphosphates à 0,5 % avec 4 % de NaCl diminue le pourcentage de rétrécissement d'un facteur 6. Quelque soit la solution initiale, l'action sur la structure du muscle est optimale pour une concentration de 4 % en NaCl.

NaCl, comme MgCl₂, jouerait un rôle de rupture des interactions et des ponts intermoléculaires entre protéines musculaires à une concentration de sel critique et qui augmenterait le Pouvoir de Rétention d'Eau, effet additionné à celui des pyrophosphates. Le chlorure de Sodium jouerait de plus un rôle d'inhibition des polyphosphatases.

Il est à souligner que cet effet sur le P.R.E. est irréversible.

III - ATTENDRISEMENT PAR VOIE ENZYMATIQUE

Une possibilité, autre que les polyphosphates, pour tenter d'attendrir un muscle, est l'utilisation d'enzymes protéolytiques, protéases végétales, animales, bactériennes ou fongiques, pour la lyse des protéines du muscle, protéines myofibrillaires, sarcoplasmiques. Ces enzymes peuvent être les enzymes même du muscle, que l'on peut activer par injection de substances activatrices, ou des enzymes étrangères au muscle qui lui sont introduites.

Parmi les enzymes protéolytiques les plus utilisées, on rencontrera principalement la papaïne, enzyme végétale, ainsi que d'autres protéases telles que la ficine, la Bromélaïne, des collagénases, des protéases pancréatiques, quelques protéases bactériennes ou fongiques.

A - La Papaïne :

La papaïne est une enzyme d'origine végétale, extraite du latex de papaye.

Caractéristiques :

- * pH : La papaïne est active à des pH de 3,5 à 8,5, avec son activité optimale à des pH de 6,0 à 7,0.
- * température : Sa température optimale est de 60°C à 70°C.
La papaïne est inactivée à 80°C.
Elle doit être conservée à sec à des températures inférieures à 15°C.
- * Activation, Inhibition : La papaïne est active en milieu réducteur et inactivée par des agents oxydants. Elle est activée par les composés thiol (SH), notamment par la cystéine. Elle est inhibée par les réactions d'acétylations, d'oxydation, d'une manière relativement lente par O₂

Utilisation :

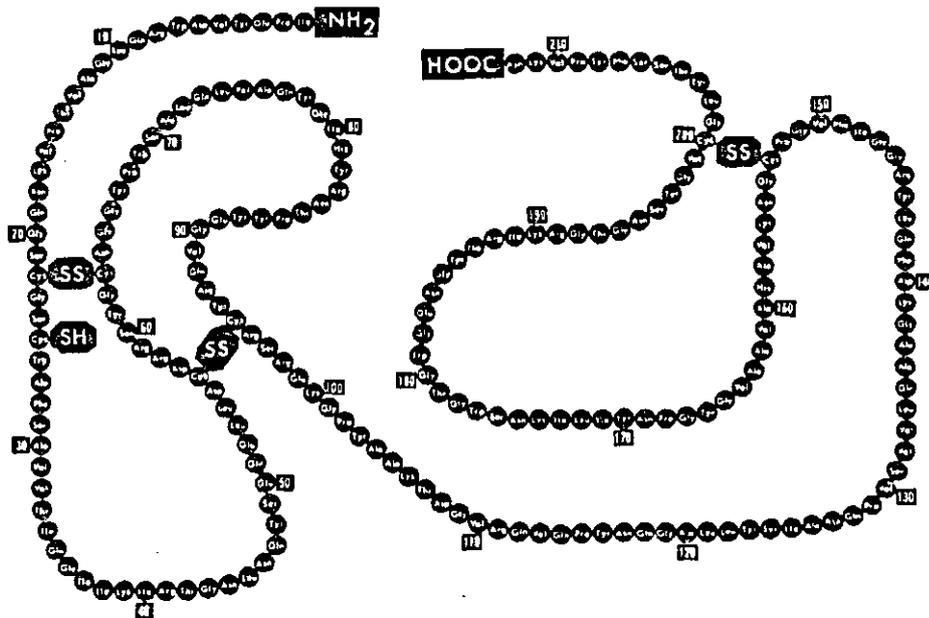
On connaît essentiellement l'utilisation de la papaïne pour la clarification de la bière.

Au niveau attendrissement, l'utilisation de la papaïne a été effectuée, par exemple, pour attendrir la chair de volaille. (cf. *Journal of Food Scienc. Techn.* - 22. N°4.)

L'usage industriel de la papaïne n'est pas autorisée en France, mais l'est pour l'usage domestique, présentée sous forme de sel attendrisseur (sel+papaïne).

Structure et mode d'action :

La papaïne est une protéine, chaîne de 212 Acides Animés, dont la séquence et la structure nous sont montrées sur la figure ci-dessous.



From Drenth et al. (1971)

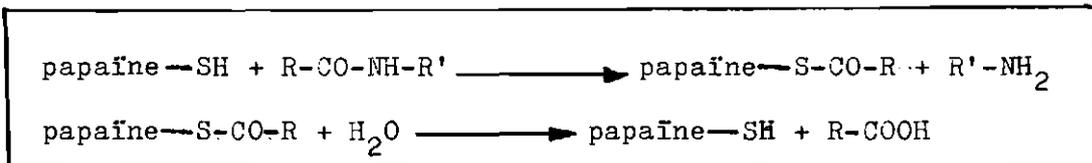
FIG. 27.2. PRIMARY STRUCTURE OF PAPAINE

Showing the sequence of the 212 amino acid residues, the location of the essential sulfhydryl group (SH) and that aspect of the tertiary structure determined by the intramolecular crosslinking of distant amino acids through cystine disulfide bridges (SS).

Il est à noter l'existence des ponts di-Sulfure (S S) entre molécules de cystéine déterminant la structure tertiaire de la papaïne.

Le site actif de l'enzyme est situé au niveau de la cystéine en position 25, grâce à son groupement SH.

La réaction entre la papaïne et une protéine est la suivante :



Au niveau spécificité d'action de la papaïne sur les protéines musculaires, il semble y avoir un désaccord de certains auteurs sur l'action ou non de la papaïne sur le collagène. Il apparaît de toute façon que la papaïne a une action remarquable sur les protéines myofibrillaires : Actine et Myosine.

Applications :

Comme exemple d'application de la papaïne à l'attendrissement, on peut citer l'attendrissement de la chair de volaille par une saumure à 5 % contenant 0,5 % de papaïne, attendrissement Post-Mortem avant cuisson.

Il y a bien sûr eu d'autres applications déjà effectuées, autres que celles sur la chair de volaille, mais cette application donne une idée des faibles doses de papaïne utilisées, nécessaires à un attendrissement.

En plus de la papaïne, la papaye (végétal duquel est tirée la papaïne) contient au moins 2 autres protéases, appelées "papaïnases" qui sont : la papaye peptidase A

la chymopapaïne, jusque là négligée, mais qui contribuerait le plus à l'attendrissement de la viande.

Avec le même mode d'action, la même spécificité que la

papaïne, la chymopapaïne à l'avantage d'être plus stable, jusqu'à un pH de 2,0 en solution.

B - Autres enzymes végétales :

Il existe d'autres protéases végétales que la papaïne qui pourrait être utilisées pour agir sur les protéines musculaires, mais qui sont moins souvent utilisées en raison de leur coût ou de leur moindre efficacité ou spécificité, ou parce que trop exigeantes au niveau conditions d'utilisation et donc de leur difficile mise en application

* la ficine : C'est une protéase tirée de la figue.

Active à des pH de 3,5 à 9, son pH d'activité optimale est situé entre pH = 6,5 et 7,5.

Sa température optimale est de 65°C. Elle est inactivée à 80°C.

Cette protéase peut hydrolyser plusieurs protéines musculaires, notamment l'Actine, la myosine, le collagène et l'élastine.

* la bromélaïne : Autre protéase végétale, la bromélaïne est tirée de l'ananas. Active dans les mêmes conditions que les enzymes précédents, c'est à dire à des pH et températures optimaux respectivement de 6,5 à 7,5 et de 65°C, et inactivée à 80°C, elle peut être utilisée pour l'hydrolyse des protéines myofibrillaires et du collagène.

On peut remarquer que ces protéases végétales sont actives dans les mêmes conditions, ce qui peut faciliter et suggérer peut-être, l'utilisation d'une combinaison de ces enzymes pour l'hydrolyse des différentes

protéines musculaires. On peut enfin citer une dernière protéase végétale distribuée sous l'étiquette "protéase V 200" qui possède un pH optimum de 7 et une température optimale de 70°C et qui peut être utilisée pour hydrolyser spécifiquement les protéines myofibrillaires du muscle.

C - Enzymes microbiennes :

* protéase "B 500" de Bacillus subtilis

Cette protéase bactérienne est active à des pH de 5 à 9 avec un pH optimum de 6.

Au niveau température, elle est active de 15 à 60°C, avec une activité optimale à 50°C. Elle est inactivée à 70°C. Elle peut être utilisée pour l'hydrolyse des protéines myofibrillaires.

* protéase "B 5000" de Bacillus subtilis

Dix fois plus concentrée que la précédente, cette protéase est une métallo-enzyme, possédant un ion Zn^{2+} sur son site catalytique.

pH : active de 5,5 à 8,5 avec une activité optimale de 6,5 à 7,5.

températures : températures optimales de 50 à 55°C, elle inhibée à 85°C.

Ca²⁺ : effet stabilisant.

Cette protéase est inhibée par l'EDTA, les ions phosphates, l'orthophénantroline, par complexation de Zn^{2+} et de Ca^{2+} . Elle est déjà utilisée pour la protéolyse pour l'attendrissement de viande.

Ces deux enzymes bactériennes peuvent avoir une action efficace et significative sur les protéines myofibrillaires mais n'en ont pratiquement aucune sur le collagène ou l'élastine.

Il existe par contre certaines enzymes dites "collagénases" qui ont donc une action protéolytique spécifique sur le collagène, comme la collagénase de *Clostridium histolyticum*.

D - Enzymes d'origine animale :

*** les cathépsines :**

Contenues dans les lysosomes et libérées par décomposition des membranes lysosomales sous l'action de la vitamine A, elles ont une action de dénaturation des protéines, notamment les cathépsines B et D :

	cathepsine D	cathepsine B
substrat synthétique	-	Benzoyl - Arginine
activation	-	Thiols - EDTA
inhibition	Acide pyruvique 3-phényl	Acide caproïque
pH optimum	3 - 4,5	4 - 6,5
P.M.	58 000	52 000
observations	.Attaque essentiellement le collagène	.attaque du collagène .Inhibe les autres enzymes.

*** les collagénases pancréatiques :**

Ce sont des collagénases des pancréas de porc et de boeuf.

Ce sont donc des protéases provoquant spécifiquement la dénaturation du collagène et sa solubilisation.

Ayant un pH optimum moyen de 5,5, elles sont activées par la présence d'ions Ca^{2+} .

La dénaturation du collagène se traduit par la formation d'hypoxanthine dont le dosage permet de mesurer l'acti-

tivité de l'enzyme.

Optimisation : à ces collagènes, peuvent être substitués des α -amylases qui jouent un rôle de complémentarité en dispersant les fibres de collagène, les rendant ainsi plus accessibles à l'attaque protéolytique.

* la trypsine :

Elle est une protéase qui attaque spécifiquement la Troponine et la Tropomyosine. Il faut rappeler que la Tropomyosine A (ou paramyosine) serait la protéine de structure la plus importante chez les mollusques, représentant 20 % des protéines totales.

E - Action protéolytique spécifique des différentes enzymes citées :

Pour l'attaque des protéines myofibrillaires, les enzymes principales à utiliser seraient soit la papaïne, la bromélaïne, la ficine, la Trypsine, et certaines enzymes microbiennes. Pour l'attaque des protéines conjonctives, ce sont les collagénases, la Bromélaïne, la papaïne, les cathepsines, les élastases qui n'ont pas été citées, enzymes de dénaturation de l'élastine.

IV - METHODES DE MESURE DE LA TEXTURE

Il existe différentes méthodes instrumentales de mesure de la texture d'un produit, notamment celles du type "mesure de la résistance d'un matériau". Mais pour la texture d'un produit alimentaire, sont plus souvent utilisés des instruments qui mesurent des forces caractéristiques de la texture et qui mesurent en fait différents caractères: fermeté, élasticité, aspect caoutchouteux, masticabilité, ... Ces instruments peuvent mesurer :

- la force de cisaillement (force nécessaire pour couper les fibres),
- la force d'arrachement de la chair,
- l'élongation,
- la tension de rupture,
- la force nécessaire à la pénétration ou la profondeur de pénétration dans la chair.

En dehors de ces méthodes physiques de mesure on peut faire appel, pour évaluer ou déterminer la texture d'un produit, à un jury de dégustateurs, déterminant la texture en se reposant essentiellement sur les critères décrits dans le tableau suivant :

	Profil de texture de poisson Bulletin d'estimation	Date : Jury : Echantillon N° :
Première impression	Dureté Emiettage (délitage ; la langue contre le palais)	
Mastication	Facilité de mastication Fibres (texture fibreuse) Humidité (sensation de jutosité) Cohésion de la bouchée (après dix mastications) Adhésivité	
Appréciation résiduelle	Bouche huileuse, impression de pellicule Astringence	
Couleur	Clarté, côté peau côté squelette Uniformité, côté peau côté squelette	

PARTIE III :

ETUDE EXPERIMENTALE

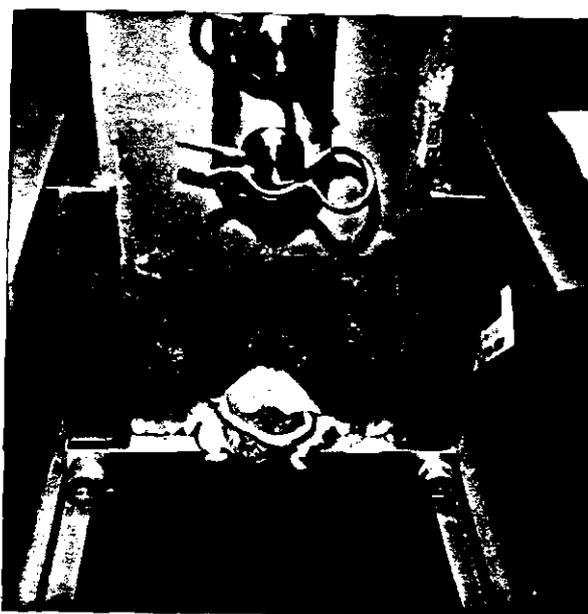
MATERIEL ET METHODES

A -MATERIEL DE MESURE

* L'INSTROM



L'INSTROM est un texturomètre pouvant mesurer différentes forces caractéristiques de la texture d'un produit, telles que force de cisaillement, d'étirement, d'arrachement ou de compression. Les quelques mesures qui auront été faites sur l'Amande de Mer sont celles de la force de cisaillement exercée sur le pied, partie du mollusque qui nous intéresse. Le principe de la mesure est le suivant. :

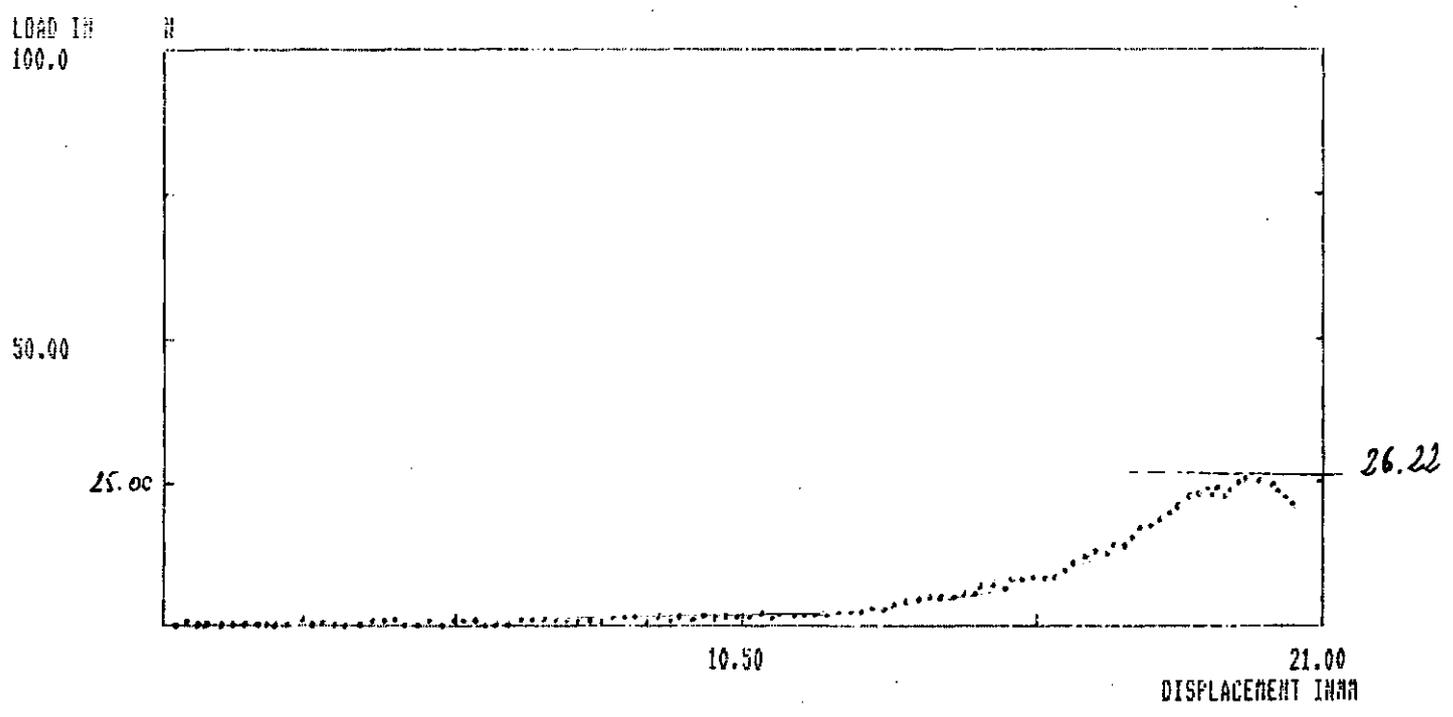


Une lame, peu tranchante, descend à vitesse régulière (20mm/min) sur le pied. L' appareil enregistre la force exercée par la lame sur le pied, force enregistrée toutes les 10 secondes et dont l'évolution avec le déplacement de la lame nous est donné par la figure ci-dessous. La valeur retenue est la valeur crête de cette force, dite de cisaillement. L'appareil s'arrête automatiquement et nous donne la valeur crête obtenue lorsqu'il a enregistré une diminution de la force de 5 %.

PRESENTATION DES RESULTATS 1

RESULTATS

A VALEUR CRETE N	MM
26.22	19.56



B - MANIPULATIONS ET TRAITEMENTS1 - composition protéique du muscle :

La détermination de la composition en protéines du pied de l'Amande de Mer a été effectuée par la méthode de Kjeldhal. Ont été ainsi déterminées les teneurs en :

- Protéines totales,
- Protéines sarcoplasmiques,
- Protéines myofibrillaires,
- Protéines du stroma (Collagène).

La technique d'extraction, basée sur les différences de solubilité, et le dosage des différentes fractions protéiques du muscle sont présentés en Annexe page 54. .

En raison de difficultés rencontrées au cours des extractions, notamment de séparation surnageant-culot, une certaine erreur à été commise sur les résultats d'analyse. Ces résultats nous donnent tout de même une idée des proportions des différentes protéines du muscle, en particulier en collagène et protéines myofibrillaires. Ces résultats pourraient permettre, peut-être, d'orienter par la suite les recherches d'une méthode d'attendrissement, en agissant spécifiquement sur tel ou tel type de protéines musculaires.

2 - technique d'attendrissement par les polyphosphates :

Ce stage a pour objectif d'identifier les traitements envisageables pour l'attendrissement de la chair d'Amande de Mer. C'est pourquoi, les essais effectués ne sont que préliminaires, et les critères étudiés sont essentiellement d'ordre organoleptique.

Au niveau de l'utilisation des polyphosphates, à partir des renseignements recueillis, les Amandes de Mer ont été traitées par différentes solutions. Les polyphosphates utilisés sont les pyrophosphates dont l'efficacité est la meilleure. Les Amandes de Mer ont ainsi été plongées dans des solutions à différentes concentrations en pyrophosphates, en NaCl, en Acide Ascorbique pendant des temps de 10, 20 et 30 minutes, solutions qui sont les suivantes :

- solution à 1 % en pyrophosphates et 4 % en NaCl.
- solution à 2 % en pyrophosphates et 2,5 % en NaCl.
- solution à 2 % en pyrophosphates, 2 % en NaCl, 0,5 % en Acide Ascorbique.
- solution à 2 % en pyrophosphates et 0,5 % en Acide Ascorbique.
- solution à 5 % en pyrophosphates et 0,5 % en Acide Ascorbique.

3 - technique d'attendrissement par voie enzymatique :

Durant ce stage, trois traitements enzymatiques différents ont été testés pour l'attendrissement de la chair d'Amande de Mer. Pour chacun de ceux-ci des essais préliminaires ont été effectués. A partir des résultats obtenus, différents paramètres ont été étudiés, afin de voir leur influence sur l'action attendrissante et afin d'optimiser la résultat final.

Traitement par la préparation "V 100" :

"V 100" est une préparation enzymatique contenant de la papaïne et de la chymopapaïne, protéases que nous avons présentées précédemment. Dans un premier temps, les Amandes de Mer ont été plongées dans une saumure à 5 %, à des concentrations en V 100 de 1‰, 2,5‰, et 5‰ et à 65°C, pendant des temps de 10, 30 et 60 minutes. L'action enzymatique est stoppée par le passage dans un bain d'eau à 100°C pendant 30 secondes. A partir des résultats obtenus, nous avons fait varier différents paramètres, tels que la concentration en V 100 et la température, toujours durant différents temps d'action.

Traitement par la papaïne :

De la même façon que pour le traitement précédent, les mollusques sont plongés dans une saumure (à 4 %), à différentes concentrations en papaïne, pendant différents temps et à une température fixée à 65°C.

L'action enzymatique est arrêtée par traitement thermique à 100°C pendant 30 secondes.

Traitement par "TONA 14" :

TONA 14 est une préparation utilisée sur le marché Américain ainsi qu'en Angleterre, à usage industriel, utilisation non autorisée à ce jour en France, dont la composition est la suivante :

- protéase V 100.....	2 %	} permettent le maintien de la pression osmotique et la pénétration de l'enzyme.
- Glutamate monosodique	8 %	
- Sucrose	22 %	
- Chlorure de Sodium	68 %	

* Action de la preparation TONA 14 :

Il y a d'abord pénétration de l'enzyme dans le muscle, par diffusion facilitée. Cette pénétration dépend du temps, de la température, de la structure histologique des tissus musculaires, de la concentration en sel et surtout de la concentration en enzyme. C'est pourquoi ces paramètres et le mode opératoire défini ci-après, qui ont été déterminés spécifiquement pour l'attendrissement de la viande, ne correspondent pas forcément à ceux qui seraient nécessaires à l'attendrissement du muscle de l'Amande de Mer, en raison d'une structure histologique du muscle différente. C'est seulement après pénétration de l'enzyme que l'on exposera les Amandes de Mer aux conditions favorables à l'action protéolytique de l'enzyme, conditions en temps et en température.

* Mode opératoire :

- Dissoudre 120,1 g de TONA 14 dans un litre d'eau froide
- soit - protéase V 100 : 2,40 g (2 %)
- Glutamate : 9,61 g (8 %)
- Sucrose : 26,42 g (22 %)
- NaCl : 81,67 g (68 %)

120,1 g

- Plonger les pièces à attendrir 10 à 30 secondes dans la solution
- Laisser égoutter de 30 minutes à 4 heures, à température ambiante (70 à 75° F)

- Congeler
- (Récupérer la solution TONA 14. Elle peut être réutilisée.
La conserver à $+4^{\circ}\text{C}$, pendant 5 jours maximum.)

RESULTATS ET DISCUSSION

A - TENEURS EN PROTEINES DU MUSCLE :

Les méthodes qui ont été utilisées pour l'extraction et le dosage des protéines du muscle de l'Amande de Mer sont présentés en annexes page 51...

La composition du muscle en protéines est la suivante :

* Protéines Totales :

$$- PT = \frac{V(HCL) \cdot 14}{g \text{ du muscle}}$$

$$- \text{masse du muscle pesée} : 3,982 \text{ g}$$

$$- \text{dosage} : V(HCL) = 10,86 \text{ ml}$$

$$- Nt = \frac{10,86 \cdot 14}{3,982} = 38,2 \text{ mg de N/g de muscle}$$

$$- Pt = 38,2 \cdot 6,25 = \underline{238,64 \text{ mg de P/g de muscle.}}$$

La teneur en protéines du muscle est donc d'environ 24 %

* Protéines sarcoplasmiques :

$$- \text{masse pesée pour l'extraction} = 15,03 \text{ g}$$

$$- V(HCL) = 4,88 \text{ ml}$$

$$- Ps = \frac{4,88 - 0,1 \cdot 14 \cdot 100 \cdot 10^{-3}}{15,03 \cdot 10 \cdot 10^{-3}} \cdot 6,25$$

$$: \underline{\text{Protéines sarcoplasmiques} = 28,4 \text{ mg/g de muscle}}$$

* Protéines myofibrillaires :

$$- V(HCL) = 0,83 \text{ ml}$$

$$- Pm = \frac{0,83 \cdot 0,1 \cdot 14 \cdot 100 \cdot 10^{-3}}{15,03 \cdot 10 \cdot 10^{-3}}$$

$$\underline{\text{Protéines myofibrillaires} = 4,8 \text{ mg/g de muscle}}$$

* Protéines dénaturées :

$$-V(HCL) = 4,12 \text{ ml}$$

$$- Pd = \frac{4,12 \cdot 0,1 \cdot 14 \cdot 150 \cdot 10^{-3}}{15,03 \cdot 10 \cdot 10^{-3}}$$

$$\underline{\text{Protéines dénaturées} = 36,2 \text{ mg/g de muscle}}$$

* Collagène :

- V(HCL) = 25,24

- collagène = $\frac{25,24 \cdot 14}{15,03} \cdot 6,25 = \underline{\underline{147 \text{ mg/g de muscle}}}$

On a donc :	protéines sarcoplasmiques	= 28,4 mg/g
	protéines myofibrillaires	= 4,8 mg/g
	protéines dénaturées	= 36,2 mg/g
	collagène	= 147,0 mg/g
		<hr/>
		216,4 mg/g

En additionnant les teneurs de toutes ces protéines, on ne retrouve pas le résultat du dosage des Protéines Totales, en raison de pertes au cours des extractions. On peut tout de même tirer une idée approximative de la teneur du muscle en ces différentes protéines.

Les pourcentages approximatifs des différentes protéines sur les Protéines Totales sont de :

Protéines sarcoplasmiques	= 10 - 15 %
Protéines myofibrillaires	= 2 - 5 %
Protéines dénaturées	= 15 - 20 %
Collagène	= 65 - 70 %

On peut donc tirer de ces résultats approximatifs, l'importante proportion que représente le collagène dans le muscle. Cette forte teneur du pied de l'Amande de Mer en collagène peut orienter les recherches de méthodes d'attendrissement enzymatique vers l'utilisation de collagénases plutôt que de protéases telles que la papaine, vers laquelle les essais durant ce stage ont été orientés.

Il est à noter l'importance des protéines dénaturées. Cela est sans doute dû principalement au fait que les essais durant ce stage ont été effectués sur des Amandes de Mer congelées, la congélation abimant et dénaturant les protéines.

B - RESULTATS DES TRAITEMENTS PAR LES PYROPHOSPHATES

Les résultats qui vont suivre sont ceux de tests organoleptiques, qui s'appuient uniquement sur le critère de fermeté et d'élasticité caractérisées par la résistance à la mastication.

* solution à 1 % en pyrophosphates et 4 % en NaCl :

Les Amandes de Mer ont été plongées 10, 20 à 30 minutes dans cette solution.

Contrairement à ce que l'on aurait pu attendre, on obtient de moins bons résultats après 20 et 30 minutes de traitement qu'après 10 minutes, temps après lequel on obtient un attendrissement notable mais encore largement insuffisant, ces résultats reposant ici uniquement sur le critère de fermeté.

Pour les traitements de 20 à 30 minutes, aucun attendrissement notable de la chair n'a été observé.

Il faut noter de plus la trop forte concentration en NaCl qui donne un goût excessivement salé aux mollusques.

Dans les essais suivants, la concentration de la saumure sera donc baissée à 2 et 2,5 %.

* solution à 2 % en pyrophosphates et 2,5 % en NaCl :

Il a été effectué des tests organoleptiques aussitôt après le traitement puis après refroidissement. Il apparaît une légère amélioration, une texture légèrement moins ferme et moins élastique, après 20 et 30 minutes de traitement mais ensuite un durcissement de la chair au cours du refroidissement.

Aucun résultat satisfaisant n'apparaît donc ici.

* solution 2 % pyrophosphates, 2 % NaCl, 0,5 % Acide Ascorbique :

Aucune amélioration n'a été notée, quelque soit la durée du traitement : 10, 20 ou 30 minutes.

* solution 2 % pyrophosphates, 0,5 % Acide Ascorbique :

Là non plus, après les différents temps de traitement, aucun attendrissement du pied de l'amande de Mer n'a pu être observé.

* solution à 5 % pyrophosphates, 0,5 % Acide Ascorbique :

On peut noter après ce traitement une nette amélioration de la texture aux différents temps d'application, mais sans différences apparentes entre les traitements de 10, 20 et 30 minutes. Cet attendrissement reste cependant, toujours largement insuffisant, malgré la teneur relativement importante de la solution en pyrophosphates (5 %). Augmenter la concentration en pyrophosphates (> 5 %) dans la solution, augmenterait leur teneur résiduelle dans le produit, au risque de dépasser les normes autorisées (cf : page 15).

Il serait nécessaire, pour le savoir, de doser les pyrophosphates par la méthode citée en référence page 49 , chose qui n'a pas été faite en raison des résultats non concluants obtenus par l'utilisation de ces additifs, et en raison de l'orientation qui a été prise pour la recherche d'une méthode d'attendrissement vers une voie enzymatique, avec laquelle nous allons le voir, nous avons obtenus des résultats plus encourageants.

Traitement par "V 100"

concentration en V 100 temps de traitement.	1 ‰	2,5 ‰	5 ‰
<u>10 minutes</u>	a - bon aspect - bonne tenue, identique avant traitement. b - Aucun attendri- ssement notable. Texture extrê- mement ferme.	a - aspect gluant - pas de tenue : manteau, bran- chies sont défaits. b - Attendrissement net. - résistance à la mastication ac- ceptable. - aspect désagré- able et pâteux dans la bouche.	- Manteau, bran- chies, sont totalement hy- drolysés.
<u>30 minutes</u>	a - bon aspect. - problème de tenue mais pas trop prononcé. b - attendissement sensible. - texture satis- faisante - donne un aspect croquant agré- able.	- Manteau, bran- chies, viscères, sont totalement hydrolysés.	- bouillie.
<u>60 minutes</u>	a - aspect gluant. - pas de tenue. b - attendrissemnt net mais aspect très désagrée- ble dans la bouche.	- bouillie.	- bouillie.

Ce que l'on peut dire à partir de ces résultats est :

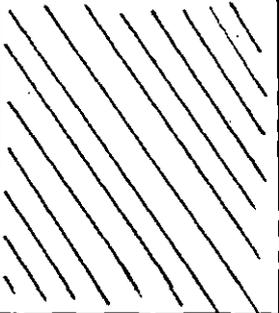
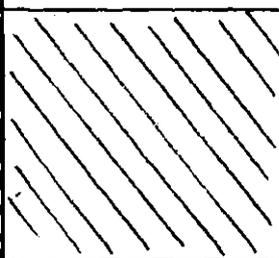
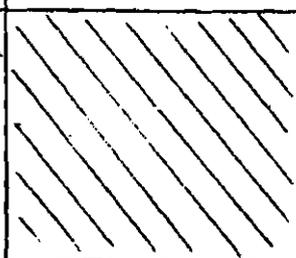
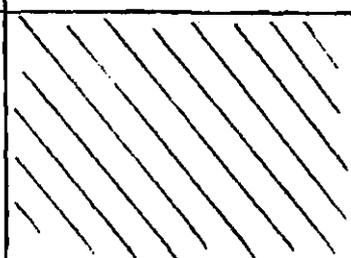
- d'une part qu'une concentration de 2,5‰ en V 100 est déjà trop élevée, dans les conditions dans lesquelles nous nous plaçons,
- d'autre part, si on prend une concentration de 1‰, un temps d'action de 10 minutes est insuffisant; un temps de 60 minutes est excessif.

Il faudra donc s'intéresser à des concentrations autour de 1‰ et 2‰ et à des temps d'action autour de 30 minutes.

Ce qu'il y a à remarquer à partir de ces premiers résultats, est le difficile compromis à trouver entre un attendrissement suffisant du pied et une tenue acceptable pour la partie viscérale, les branchies et le manteau.

Il faudra remarquer enfin le goût trop salé en raison d'une concentration en sel trop élevée (5 %) et les pertes de couleurs orangée du haut du pied mais seulement pour les traitements de 60 minutes.

A partir de ces résultats, d'autres essais ont été faits avec la V 100, à des concentrations plus faibles, dans une saumure à 4 ‰, à 60°C. Le tableau ci-après en présente les résultats.

concentration en V 100 temps de traitement	0,5 ‰	1 ‰	1,5 ‰	2 ‰
<u>15 minutes</u>		a-bon aspect, inchangé. b-pas d'amélioration de la texture.	a- bon aspect, bonne tenue b-pas d'amélioration de la texture.	a-manteau, branches + ou - défauts, encore acceptable. b-pied - ferme, - élastique, mais attendrissement encore insuffisant.
<u>30 minutes</u>	a-bon aspect, bonne tenue b-attendrissement + ou - net, satisfaisant. -aspect quelque peu croquant	a-bonne tenue, bon aspect b-bonne amélioration de la texture. -texture et aspect agréables.	a- tenue + ou - correcte b- attendrissement du pied très satisfaisant mais aspect pateux désagréable dans la bouche.	a-manteau, branches, viscères, totalement hydrolysés.
<u>45 minutes</u>	a-manteau, branches, + ou - défauts mais tenue acceptable. b-attendrissement satisfaisant. aspect pateux pas trop prononcé.	a-pièces abimées, aspect gluant. b-partie viscérale trop attendrie : problème pateux dans la bouche.	a-manteau, branches totalement hydrolysées, passées en solution.	a- aspect de bouillie.
<u>60 minutes</u>	a-manteau, branches défauts. b-pied nettement attendri mais aspect pateux dans la bouche			

On retrouve les résultats intéressants pour un traitement de 30 minutes dans une saumure à 1‰ en V 100. Pour des concentrations en enzymes supérieures à 1‰, l'action attendrissante est trop importante, les résultats obtenus ne sont pas satisfaisants.

Le meilleur compromis entre un attendrissement suffisant du pied et une action d'hydrolyse pas trop importante sur les autres parties, est obtenu ici avec une concentration en enzyme inférieure ou égale à 1‰ pour une durée de traitement de 30 à 45 minutes.

Traitement par la papaïne :

concentration en papaïne temps de traitement	0,5‰	1‰	2‰
<u>15 minutes</u>	a-pas de changement de tenue après traitement b-pied extrêmement ferme et élastique. Attendrissement néant.	a-bonne tenue. b-amélioration de la texture notable mais insuffisante,, pied encore trop ferme.	a-manteau, branchies déjà + ou - défauts b-attendrissement déjà très net. aspect croquant du pied dans la bouche.
<u>30 minutes</u>	a-pas de changement de tenue. b-pied + ou - attendri mais reste encore très ferme.	a-manteau quelque peu défaut. b-attendrissement très net. le pied reste cependant assez croquant.	a-peu de tenue. manteau, branchies défauts. aspect gluant très prononcé. b-pied trop attendri. aspect de pâte molle, gluante, qui laisse une impression désagréable dans la bouche
<u>45 minutes</u>	a-bonne tenue de la pièce b-attendrissement net. texture + ou - molle. pas d'aspect désagréable dans la bouche à noter.	a- pas de tenue. manteau, branchies défauts. b-pied trop attendri. aspect pateux désagréable dans la bouche.	- bouillie.

Les couples concentration en papaïne - temps de traitement, pour lesquels on obtient des résultats satisfaisants sont de 45 minutes - 0,05‰, 30 minutes - 1‰, 15 minutes - 2‰ .

On retrouve, à peu près les mêmes résultats qu'avec la préparation V 100.

Traitement par TONA 14 :

Un premier essai a été effectué avec un temps de trempage fixé à 30 secondes et un temps d'égouttage de 2 heures. (Essai 1)

A partir des tests organoleptiques, on a pu noter une nette amélioration de la texture du pied :

- diminution de la fermeté et de l'élasticité du muscle,
- diminution de la résistance à la mastication.

De plus, les problèmes rencontrés lors des essais d'attendrissement précédents par la papaïne et la préparation V 100, ne se sont pas posés :

- pas de problème de présentation et de tenue de la pièce,
- pas de problème d'hydrolyse trop forte de la partie viscérale causant un aspect désagréable, pateux dans la bouche.

Cependant, malgré une nette amélioration de la texture l'attendrissement reste insuffisant.

Afin d'améliorer et d'optimiser cette action attendrissante, les essais suivants ont consisté à étudier l'influence de différents paramètres sur le résultats final.

* influence du temps de trempage :

Les Amandes ont été trempées dans la solution TONA 14 pendant 15, 30 et 45 secondes. La suite du traitement s'est fait dans les mêmes conditions. (essais 2, 3 et 4)

Il apparait qu'un temps de trempage de 15 secondes est insuffisant. L'attendrissement est faible voire nul. La chair des mollusques traités apparait toujours aussi ferme et élastique.

Ce résultat serait sans doute dû à un problème de temps de pénétration de l'enzyme dans le muscle.

Pour des temps de trempage de 30 et 45 secondes, aucune différence n'apparait entre les résultats de ces 2 traitements. On retrouve ceux du premier essai effectué (30'' de bain, 2 H de trempage) exprimés précédemment.

Il apparait donc qu'il faudra respecter un temps de trempage minimum d'environ 30 secondes pour assurer la pénétration de la protéase dans le muscle. Ce temps minimum respecté, ce paramètre ne semble pas avoir d'influence sur le résultat final.

* influence du temps d'égouttage :

Le temps de bain est fixée à 30 secondes, les différents temps d'égouttage à 1, 2, 3 et 4 heures.

(Essai 5) - 1 heure : Ces temps d'égouttage correspondent aux temps d'action d'hydrolyse de la protéase sur les protéines du muscle.

Au bout d'une heure, ce temps d'action apparait insuffisant. Il a été noté peu ou pas d'amélioration de la texture du pied qui reste toujours très ferme.

(Essai 6) - 2 heures : On se retrouve dans les mêmes conditions que le premier essai effectué, avec des temps de trempage et d'égouttage respectivement de 30 secondes et de 2 heures. Une nette amélioration de la texture a été obtenue mais l'attendrissement reste insuffisant.

(Essai 7) - 3 heures : Le résultat semble meilleur que le précédent. Le pied a été plus attendri. Il reste cependant assez ferme, présentant un aspect croquant qui reste agréable et qui peut être intéressant.

(Essai 8) - 4 heures ; On obtient des résultats semblables qu'à trois heures d'égouttage.

On peut donc noter à partir des résultats de ces quatre traitements, que le temps d'égouttage semble avoir une influence notable sur le résultat final. L'attendrissement est d'autant plus important que le temps d'égouttage est long, ceci jusqu'à un temps de Trois heures. Cette influence reste cependant limitée.

* influence de la concentration en V 100 :

Initialement à 2 % dans la préparation cristalline (soit à 2,4 % en solution) la concentration en V 100 a été portée à 5 % (soit 6 % en solution)

Les conditions d'essais ont été fixées à 30 secondes de trempage, 1, 2, et 3 heures d'égouttage. (Essais 9, 10, 11)

Pour chacun des essais, l'attendrissement est trop important.

On retrouve alors les problèmes de tenue des pièces et d'aspect pateux dans la bouche.

La concentration en V 100 apparait logiquement comme un paramètre influençant d'une façon importante l'attendrissement du muscle.

Une concentration de 5 % étant trop importante, l'optimisation du traitement d'attendrissement nécessiterait de tester des concentrations entre 2 et 5 %.

* influence du type d'enzyme :

Dans TONA 14, la préparation V 100 a été remplacée par de la papaïne pure. Des essais ont été effectués avec des concentrations en papaïne de 2 % et 5 %, les temps de trempage et d'égouttage étant fixés respectivement à 30 secondes et 2 heures.

(Essai 12) - papaïne à 2 % : Il a été noté une nette amélioration de la texture du pied qui reste cependant encore trop ferme. Ces résultats ne présentent pas de différence avec ceux qui ont été obtenus dans les mêmes conditions de traitement, avec la préparation V 100 à la concentration identique de 2 %.

(Essai 13) - papaïne à 5 % : Les résultats ne diffèrent pas non plus avec ceux qui ont été obtenus dans les mêmes conditions de traitement avec V 100 à 5 % : attendrissement trop important, problème de tenue, aspect gluant, aspect pateux dans la bouche.

Le remplacement de la protéase V 100 par la papaïne dans la préparation TONA 14 n'a donc aucune influence sur le résultat final. La "protéase" V 100 étant en fait un mélange de papaïne et de chymopapaïne, la remplacer par une enzyme autre que la papaïne aurait peut-être plus d'influence sur l'attendrissement du pied.

La nature de l'enzyme dans la solution attendrissante reste un paramètre à considérer pour l'optimisation de la texture finale désirée.

* influence de la température d'égouttage :

pour tous les essais précédents, l'égouttage s'est fait à température ambiante. Pour les essais suivants, l'égouttage a eu lieu dans une étuve à 35°C durant 1, 2 et 3 heures.

(Essai 14) - 1 heure à 35°C : Le pied a été très nettement attendri alors que pour un égouttage de même durée à 20°C, aucune amélioration nette n'avait été enregistrée. Le pied garde néanmoins un aspect croquant mais qui s'avère très agréable. Aucun problème de présentation, de tenue ou d'aspect dans la bouche ne peut-être soulevé. Ce traitement d'attendrissement apparaît donc satisfaisant.

(Essai 15) - 2 heures à 35°C : Il apparaît déjà après deux heures d'égouttage un attendrissement trop important, une texture trop molle et des problèmes de tenue, d'aspect et de présentation. Des résultats identiques sont obtenus à 3 heures d'égouttage. (à 35°C) (Essai 16)

La température d'égouttage apparaît donc comme un paramètre à considérer pour l'optimisation de la texture du pied de l'Amande de Mer.

De tous ces paramètres étudiés, ce sont donc la concentration en enzyme et la température d'égouttage qui paraissent influencer le plus sur le résultat final.

Il faut prendre aussi en considération, la nature de l'enzyme utilisée dans la préparation TONA 14. Il aurait été sans doute intéressant de remplacer la V 100 par des collagénases pour agir spécifiquement sur le collagène, qui représente la protéine la plus abondante dans le muscle.

Si on veut retenir le traitement qui aura été le plus satisfaisant, on pourra citer :

- (Essai 14)
- temps de bain : 30 secondes,
 - temps d'égouttage : 1 heure,
 - concentration en V 100 : 2 %,
 - température d'égouttage : 35°C.

A partir de tous ces essais d'attendrissement par TONA 14, des mesures au texturomètre INSTRON ont été effectuées; résultats exprimés en Annexes. Aucune interprétation statistique n'a été faite à partir de ces résultats en raison de l'hétérogénéité des résultats au sein d'un même échantillon et en raison de l'orientation prise pour lancer cette pré-étude, vers des tests organoleptiques uniquement.

Traitement par la papaïne :

concentration en papaïne temps de traitement	0,5‰	1‰	2‰
<u>15 minutes</u>	a-pas de changement de tenue après traitement b-pied extrêmement ferme et élastique. Attendrissement néant.	a-bonne tenue. b-amélioration de la texture notable mais insuffisante,, pied encore trop ferme.	a-manteau, branchies déjà + ou - défauts b-attendrissement déjà très net. aspect croquant du pied dans la bouche.
<u>30 minutes</u>	a-pas de changement de tenue. b-pied + ou - attendri mais reste encore très ferme.	a-manteau quelque peu défaut. b-attendrissement très net. le pied reste cependant assez croquant.	a-peu de tenue. manteau, branchies défauts. aspect gluant très prononcé. b-pied trop attendri. aspect de pâte molle, gluante, qui laisse une impression désagréable dans la bouche
<u>45 minutes</u>	a-bonne tenue de la pièce b-attendrissement net. texture + ou - molle. pas d'aspect désagréable dans la bouche à noter.	a- pas de tenue. manteau, branchies défauts. b-pied trop attendri. aspect pateux désagréable dans la bouche.	-bouillie.

Les couples concentration en papaïne - temps de traitement, pour lesquels on obtient des résultats satisfaisants sont de 45 minutes - 0,05‰, 30 minutes - 1‰, 15 minutes - 2‰ .

On retrouve, à peu près les mêmes résultats qu'avec la préparation

V 100.

Traitement par TONA 14 :

Un premier essai a été effectué avec un temps de trempage fixé à 30 secondes et un temps d'égouttage de 2 heures. (Essai 1)

A partir des tests organoleptiques, on a pu noter une nette amélioration de la texture du pied :

- diminution de la fermeté et de l'élasticité du muscle,
- diminution de la résistance à la mastication.

De plus, les problèmes rencontrés lors des essais d'attendrissement précédents par la papaïne et la préparation V 100, ne se sont pas posés :

- pas de problème de présentation et de tenue de la pièce,
- pas de problème d'hydrolyse trop forte de la partie viscérale causant un aspect désagréable, pateux dans la bouche.

Cependant, malgré une nette amélioration de la texture l'attendrissement reste insuffisant.

Afin d'améliorer et d'optimiser cette action attendrissante, les essais suivants ont consisté à étudier l'influence de différents paramètres sur le résultats final.

* influence du temps de trempage :

Les Amandes ont été trempées dans la solution TONA 14 pendant 15, 30 et 45 secondes. La suite du traitement s'est fait dans les mêmes conditions. (essais 2, 3 et 4)

Il apparait qu'un temps de trempage de 15 secondes est insuffisant.

L'attendrissement est faible voire nul. La chair des mollusques traités apparait toujours aussi ferme et élastique.

Ce résultat serait sans doute dû à un problème de temps de pénétration de l'enzyme dans le muscle.

Pour des temps de trempage de 30 et 45 secondes, aucune différence n'apparait entre les résultats de ces 2 traitements. On retrouve ceux du premier essai effectué (30'' de bain, 2 H de trempage) exprimés précédemment.

Il apparait donc qu'il faudra respecter un temps de trempage minimum d'environ 30 secondes pour assurer la pénétration de la protéase dans le muscle. Ce temps minimum respecté, ce paramètre ne semble pas avoir d'influence sur le résultat final.

* influence du temps d'égouttage :

Le temps de bain est fixée à 30 secondes, les différents temps d'égouttage à 1, 2, 3 et 4 heures.

(Essai 5) - 1 heure : Ces temps d'égouttage correspondent aux temps d'action d'hydrolyse de la protéase sur les protéines du muscle.

Au bout d'une heure, ce temps d'action apparait insuffisant. Il a été noté peu ou pas d'amélioration de la texture du pied qui reste toujours très ferme.

(Essai 6) - 2 heures : On se retrouve dans les mêmes conditions que le premier essai effectué, avec des temps de trempage et d'égouttage respectivement de 30 secondes et de 2 heures. Une nette amélioration de la texture a été obtenue mais l'attendrissement reste insuffisant.

(Essai 7) - 3 heures : Le résultat semble meilleur que le précédent. Le pied a été plus attendri. Il reste cependant assez ferme, présentant un aspect croquant qui reste agréable et qui peut être intéressant.

(Essai 8) - 4 heures ; On obtient des résultats semblables qu'à trois heures d'égouttage.

On peut donc noter à partir des résultats de ces quatre traitements, que le temps d'égouttage semble avoir une influence notable sur le résultat final. L'attendrissement est d'autant plus important que le temps d'égouttage est long, ceci jusqu'à un temps de Trois heures. Cette influence reste cependant limitée.

* influence de la concentration en V 100 :

Initialement à 2 % dans la préparation cristalline (soit à 2,4 % en solution) la concentration en V 100 a été portée à 5 % (soit 6 % en solution)

Les conditions d'essais ont été fixées à 30 secondes de trempage, 1, 2 et 3 heures d'égouttage. (Essais 9, 10, 11)

Pour chacun des essais, l'attendrissement est trop important.

On retrouve alors les problèmes de tenue des pièces et d'aspect pateux dans la bouche.

La concentration en V 100 apparait logiquement comme un paramètre influençant d'une façon importante l'attendrissement du muscle.

Une concentration de 5 % étant trop importante, l'optimisation du traitement d'attendrissement nécessiterait de tester des concentrations entre 2 et 5 %.

* influence du type d'enzyme :

Dans TONA 14, la préparation V 100 a été remplacée par de la papaine pure. Des essais ont été effectués avec des concentrations en papaine de 2 % et 5 %, les temps de trempage et d'égouttage étant fixés respectivement à 30 secondes et 2 heures.

(Essai 12) - papaine à 2 % : Il a été noté une nette amélioration de la texture du pied qui reste cependant encore trop ferme. Ces résultats ne présentent pas de différence avec ceux qui ont été obtenus dans les mêmes conditions de traitement, avec la préparation V 100 à la concentration identique de 2 %.

(Essai 13) - papaine à 5 % : Les résultats ne diffèrent pas non plus avec ceux qui ont été obtenus dans les mêmes conditions de traitement avec V 100 à 5 % : attendrissement trop important, problème de tenue, aspect gluant, aspect pateux dans la bouche.

Le remplacement de la protéase V 100 par la papaïne dans la préparation TONA 14 n'a donc aucune influence sur le résultat final. La "protéase" V 100 étant en fait un mélange de papaïne et de chymopapaïne, la remplacer par une enzyme autre que la papaïne aurait peut-être plus d'influence sur l'attendrissement du pied.

La nature de l'enzyme dans la solution attendrissante reste un paramètre à considérer pour l'optimisation de la texture finale désirée.

* influence de la température d'égouttage :

pour tous les essais précédents, l'égouttage s'est fait à température ambiante. Pour les essais suivants, l'égouttage a eu lieu dans une étuve à 35°C durant 1, 2 et 3 heures.

(Essai 14) - 1 heure à 35°C : Le pied a été très nettement attendri alors que pour un égouttage de même durée à 20°C, aucune amélioration nette n'avait été enregistrée. Le pied garde néanmoins un aspect croquant mais qui s'avère très agréable. Aucun problème de présentation, de tenue ou d'aspect dans la bouche ne peut-être soulevé. Ce traitement d'attendrissement apparaît donc satisfaisant.

(Essai 15) - 2 heures à 35°C : Il apparaît déjà après deux heures d'égouttage un attendrissement trop important, une texture trop molle et des problèmes de tenue, d'aspect et de présentation. Des résultats identiques sont obtenus à 3 heures d'égouttage. (à 35°C) (Essai 16)

La température d'égouttage apparaît donc comme un paramètre à considérer pour l'optimisation de la texture du pied de l'Amande de Mer.

De tous ces paramètres étudiés, ce sont donc la concentration en enzyme et la température d'égouttage qui paraissent influencer le plus sur le résultat final.

Il faut prendre aussi en considération, la nature de l'enzyme utilisée dans la préparation TONA 14. Il aurait été sans doute intéressant de remplacer la V 100 par des collagénases pour agir spécifiquement sur le collagène, qui représente la protéine la plus abondante dans le muscle.

Si on veut retenir le traitement qui aura été le plus satisfaisant, on pourra citer :

- (Essai 14)
- temps de bain : 30 secondes,
 - temps d'égouttage : 1 heure,
 - concentration en V 100 : 2 %,
 - température d'égouttage : 35°C.

A partir de tous ces essais d'attendrissement par TONA 14, des mesures au texturomètre INSTRON ont été effectuées; résultats exprimés en Annexes. Aucune interprétation statistique n'a été faite à partir de ces résultats en raison de l'hétérogénéité des résultats au sein d'un même échantillon et en raison de l'orientation prise pour lancer cette pré-étude, vers des tests organoleptiques uniquement.

CONCLUSION

L'objectif de ce stage était principalement de rechercher et de tester des méthodes d'attendrissement de la chair d'Amande de Mer, en s'appuyant sur celles qui sont déjà utilisées pour attendrir la viande. Cette recherche est essentiellement orientée vers un attendrissement enzymatique.

Sur l'ensemble du stage, des résultats satisfaisants ont été obtenus. A partir de ceux-ci, des pistes intéressantes d'attendrissement du pied de l'Amande peuvent être envisagées, mais restent à approfondir. Ceci fera l'objet d'une étude plus poussée qui pourra s'inspirer des résultats obtenus durant ces sept semaines, tout en tenant compte du fait que les essais aient été effectués sur des Amandes de Mer congelées, alors que la méthode d'attendrissement serait sans doute appliquée sur des mollusques frais, au cours du processus de décoquillage.

J'espère que ce rapport aura rempli son objectif :

- en présentant le problème de texture posé par l'Amande de Mer et l'intérêt que représenterait la mise au point d'une technique d'attendrissement,
- en orientant les recherches et pouvant servir d'appui pour les études qui suivront.

ANNEXES

DOSAGE DES PHOSPHATES DANS LES PRODUITS DE LA MER

PRINCIPE : Les phosphates sont extraits par l'acide trichloracétique dilué. En présence d'acide sulfurique et de molybdate d'ammonium. Les phosphates solubles forment un complexe phospho-molybdique. Celui-ci est réduit par l'acide ascorbique. En présence d'antimoine il se forme un composé bleu.

MATERIEL : cf. défécats trichloracétique, fioles jaugées de 200 ml et 250 ml, pipettes de 2 ml, de 5 ml et de 10 ml, petits béchers, 2 cuves de 1 cm. Photomètre (8 850 Å).

PRODUITS : acide trichloracétique + produits pour préparation du réactif.

PREPARATION DU REACTIF : On mélange successivement :

- 125,0 ml H_2SO_4 , 5 N
- 37,5 ml de molybdate d'ammonium à 4 % (40g/l)
- 75,0 ml d'acide ascorbique 0,1 M (17,6g/l)
- 12,5 ml de tartrate de Sb et de K (2,743g/l)

Le réactif doit être conservé au réfrigérateur. Le jaunissement qui apparaît au cours du temps ne perturbe pas le dosage. Il n'est toutefois pas conseillé d'utiliser un mélange vieux de + de 2 semaines.

MODE OPERATOIRE : - faire un défécats trichloracétique,
 - prélever 5 ml de défécats et les diluer 2000 fois (la dilution doit être telle que la densité optique soit comprise entre 0,1 et 0,7) par ex : 5 ml de défécats dans 200 ml puis 5 ml de cette solution dans 250 ml. prendre 10 ml de la dernière dilution, ajouter 2 ml de réactif. Attendre 30 mn avant de mesurer la densité optique à 8 850 Å (appareil Jobin et Yvon) "Blanc" : 10 ml d'eau + 2 ml de réactif.

GAMME : On utilise une solution mère de KH_2PO_4 de concentration connue.

Une solution de KH_2PO_4 à 5,72 mg/l contient 4 mg/l de PO_4 .

On mesurera les densités optiques pour :

- 4 mg/l de PO_4 (10 ml sol.mère + 0 ml d'eau + 2 ml de réactif)
- 3,2 mg/l (8 + 2 + 2)
- 2,4 mg/l (6 + 4 + 2)
- 1,6 mg/l (4 + 6 + 2)
- 0,8 mg/l (2 + 8 + 2)

CALCUL : La courbe d'étalonnage permet de connaître directement par simple lecture la concentration en PO_4 dans la solution diluée du défécât. Soient :

- P : valeur obtenue par lecture sur la courbe d'etalonnage (en mg pour 100 ml)
- d : densité du défécât - dil : dilution du défécât.
- M : masse totale chair + eau + acide TCA 20 % (en g)
- m : masse de chair (en g)

La teneur t en PO_4 de la chair par la relation :

$$t = P * \frac{dil * M}{d * m} = K * P$$

produit frais :

- dil = 2000
- M = 204,8 g
- m = 100,0 g
- d = 1,022 (valeur moyenne)
- t \neq 4000 P

t en g de PO_4	pour 100 g
P en g/100ml	

Si on désire connaître la teneur en P ou en P_2O_5 on utilisera respectivement les coefficients multiplicatifs :

$P/PO_4 = 31/95 = 0,326$	$P = 0,326((PO_4))$
$P_2O_5/2PO_4 = \frac{1,495}{2}$	$P_2O_5 = 0,7475 (PO_4)$

DOSAGE DES DIFFERENTES PROTEINES DU MUSCLE PAR LA METHODE
DE KJELDHAL :

PROTEINES TOTALES :

- mettre 4 g de muscle dans un tube à distillation,
- ajouter 20 ml d' H₂SO₄ + 1 pastille de catalyseur,
- minéraliser 1.30 à 2 heures,
- distiller,
- doser par HCL 1N
- expression des résultats :

$$Nt = \text{Azote Total} = \frac{V(\text{HCL}) \cdot 1N \cdot 14}{m \text{ g de muscle}} \quad \text{mg de N/g de muscle}$$

$$\text{Protéines totales} = Nt \cdot 6,25 \text{ mg de P/g de muscle}$$

PROTEINES SARCOPLASMIQUES :

- prélever 10 ml de surnageant de la première extraction,
- y ajouter dans 1 tube 10 ml d' H₂SO₄ + 1/2 pastille de catalyseur,
- minéraliser 1.30 à 2 heures,
- distiller,
- doser par HCl 0,1N
- expression des résultats :

$$\text{Protéines sarcoplasmiques} = \frac{V(\text{HCL}) \cdot 0,1 \cdot 14 \cdot \text{volume tampon} \cdot 6,25}{g \text{ de muscle} \cdot \text{Volume surnageant}}$$

PROTEINES MYOFIBRILLAIRES :

- prélever 10 ml de surnageant de la deuxième extraction,
- y ajouter dans un tube à distiller 10 ml d' H₂SO₄ + 1/2 pastille de catalyseur
- minéraliser 1.30 à 2 heures,
- distiller,
- doser par HCl 0,1N

- expression des résultats :

$$\text{protéines myofibrillaires (mg/g)} = \frac{V(\text{HCL}) \cdot 0,1 \cdot 14 \cdot \text{Volume tampon 2}}{\text{g de muscle} \cdot \text{Volume surnageant}}$$

PROTEINES DENATUREES :

- prelever 10 ml de surnageant de la troisième extraction (par la soude)
- suivre le protocole précédent,
- expression des résultats :

$$\text{protéines dénaturées (mg/g)} = \frac{V(\text{HCL}) \cdot 0,1 \cdot 14 \cdot \text{Volume de Soude}}{\text{g de muscle} \cdot \text{Volume surnageant}} \cdot 6,25$$

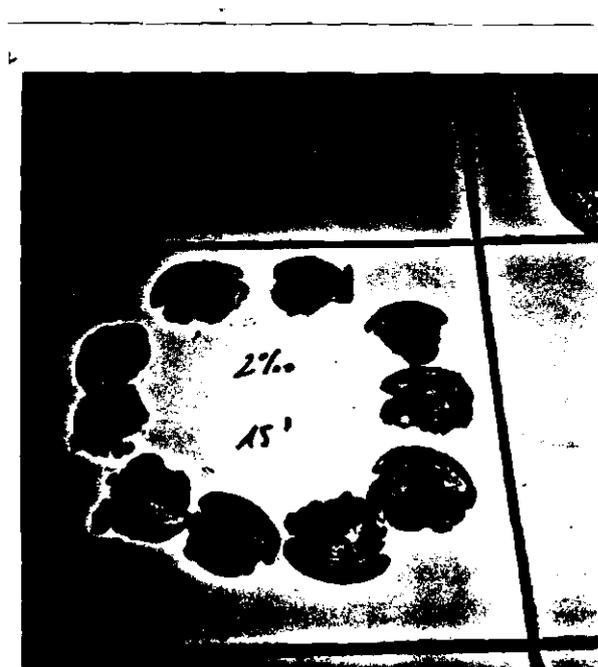
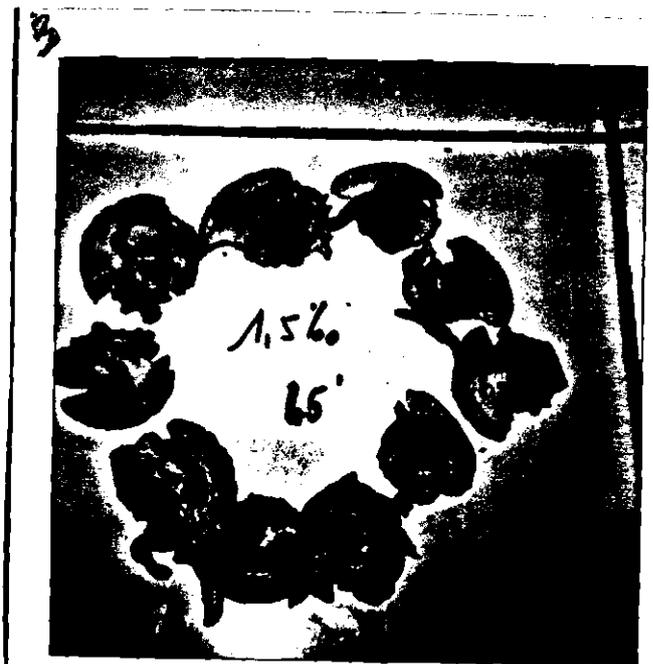
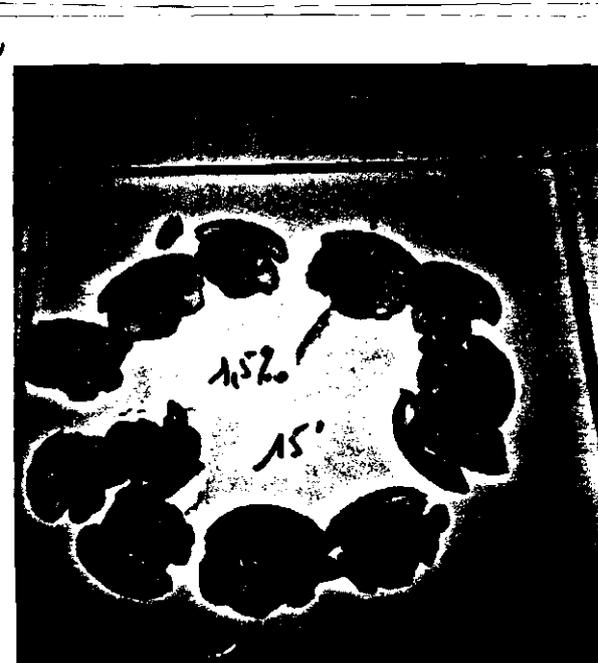
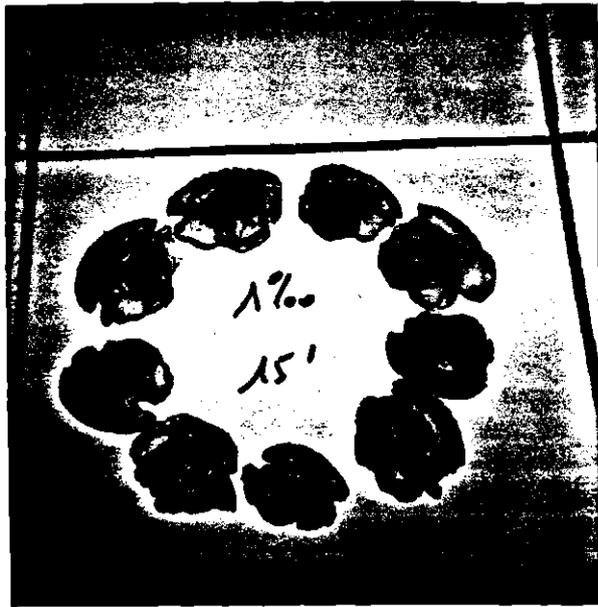
PROTEINES DU STOMA : (collagène)

- mettre tout le culot de la dernière extraction (par la soude) dans un tube à distiller + 20 ml d' H_2SO_4 + une pastille de catalyseur
- minéraliser, distiller, doser par HCL 1N,
- expression des résultats :

$$\text{collagène (mg/g)} = \frac{V(\text{HCL}) \cdot 14}{\text{g de muscle}}$$

EXEMPLES DE PROBLEMES RENCONTRES AU COURS DES TRAITEMENTS REALISES

traitement par la préparation V100.



- 1: bonne tenue - pas de problème de présentation, d'aspect.
- 2: bon aspect - bonne tenue.
- 3: branchies, manteau, totalement hydrolysés, passés en solution.
- 4: manteau, branchies + ou - défauts, encore + ou - acceptable.

RESULTATS DES MESURES AU TEXTUROMETRE SUR LES ESSAIS DE
TRAITEMENT PAR TONA 14 .

les valeurs ci-dessous sont les moyennes et écart-types obtenus sur
10 mesures pour chaque essai, de forces de cisaillement.

	<u>moyenne:</u>	<u>écart-type:</u>
• <u>Essai 1:</u>	24,12	4,56
• <u>Essai 2:</u>	18,24	2,14
• <u>Essai 3:</u>	25,21	5,57
• <u>Essai 4:</u>	31,13	5,55
• <u>Essai 5:</u>	23,00	6,55
• <u>Essai 6:</u>	23,90	4,42
• <u>Essai 7:</u>	34,77	6,63
• <u>Essai 8:</u>	26,97	6,73
• <u>Essai 9:</u>	32,95	6,25
• <u>Essai 10:</u>	23,35	5,82
• <u>Essai 11:</u>	33,74	8,67
• <u>Essai 12:</u>	23,75	4,07
• <u>Essai 13:</u>	17,98	4,72
• <u>Essai 14:</u>	25,31	5,00
• <u>Essai 15:</u>	27,15	7,04
• <u>Essai 16:</u>	25,56	8,26
• <u>Essai Témoin:</u>	35,27	4,64

(Aucunes non traitées)

BIBLIOGRAPHIE

L'AMANDE DE MER :

- "Les coquillages dans l'histoire des hommes" J. BRISOU
O.F. Université
- THE MOLLUSCA K.W. WILBUR
Ed. p.W. HOCHACHKA
- Journal of Food Science - 1983 - 48 - N°1. (composition chimique)
- Journal of Food Science - 1985 - 50 - N°4. (composition chimique)

LES POLYPHOSPHATES :

- Additif et Auxiliaires de fabrication dans les I.A.A. APRIA
TEC & DOC.
- Industries Alimentaires et Agricoles - Septembre 1984
- Food technology - 40 - N°9 - Septembre 1986.
- Journal of Food science - 1987 - 52 - N°4.
- Bulletin of the Japanese society of scientific fisheries
- 1987 - 53 - N°11.

LES ENZYMES :

- Agro-Industries - Decembre 1984 - N°4
"les enjeux du génie enzymatique"
- Journal of Food Science - 1983 - 48 - N°3
(action des protéases sur l'Actomyosine)
- Food Technology - 1986 - 40 - N°12
" Proteolytic enzymes"
- USA WestPort - 1981
(les enzymes dans les I.A.A. - Action sur les propriétés organoleptiques)
- Food Engineering - 1984 - 56 - N°5.
- Food - 1986 - 8 - N°4.