

# Les hydrolysats de poisson

par Maurice BOURY

Ingénieur Agronome

Inspecteur général à l'Office des Pêches Maritimes

D'une façon générale et quels que soient les détails particuliers des procédés de préparation, les hydrolysats de poisson peuvent être définis comme étant des produits essentiellement azotés résultant de la désintégration des protéines du poisson ; ils sont normalement constitués en majeure partie par un mélange de polypeptides plus ou moins complexes et d'acides aminés <sup>(1)</sup>.

Le nuoc-mam indochinois représente un type d'hydrolysats puisqu'il provient de l'auto-digestion du poisson par les enzymes contenus dans ses glandes digestives (1). Cette digestion est protégée contre la putréfaction bactérienne par la présence d'une forte proportion de sel ; néanmoins, étant donné les conditions pratiques de l'opération, des ferments microbiens peuvent intervenir à côté des diastases digestives. L'essentiel pour l'obtention de résultats satisfaisants est que la désintégration soit surtout le fait d'enzymes digestifs et que les bactéries putréfiantes ne se multiplient pas.

L'analyse chimique permet le contrôle des résultats obtenus et l'appréciation de la qualité des produits fabriqués.

Le nuoc-mam a fait le sujet de plusieurs publications (voir notamment les travaux cités en références bibliographiques). Cependant, il nous paraît utile d'exposer succinctement les principaux résultats d'études effectuées au laboratoire de chimie analytique de l'Office des Pêches Maritimes et concernant des hydrolysats de poisson diversement préparés.

Il convient de remarquer en effet que la méthode traditionnelle indochinoise peut subir des modifications plus ou moins notables en vue de l'adapter à d'autres espèces et à d'autres conditions de traitement que celles qui appartiennent à l'Indochine. On peut notamment rechercher l'accélération des phénomènes de digestion et l'obtention de produits dont la saveur *sui generis* ne soit pas trop accusée. Durant la dernière guerre, la pénurie de matières alimentaires a amené quelques industriels de la France métropolitaine à entreprendre la fabrication d'autolysats à partir de déchets d'étêtage et de vidage de poissons frais. Ajoutons que l'utilisation de certains poissons ou déchets de poisson sous forme d'hydrolysats serait susceptible d'accroître l'alimentation azotée des populations africaines.

---

(1) Le présent mémoire reprend, en le complétant, un rapport présenté au Congrès des Pêches dans l'Union Française d'Outre-Mer, Institut Colonial de Marseille, octobre 1950.

## METHODE D'ANALYSE

La méthode d'analyse adoptée et mise au point par le laboratoire de l'Office des Pêches met en œuvre des procédés classiques. Aussi nous nous bornerons à formuler ici différentes remarques sur les conditions d'exécution des principales déterminations, sans entrer dans la description détaillée des techniques opératoires.

Les déterminations effectuées doivent renseigner sur la valeur nutritive et sur la qualité hygiénique du produit examiné.

*Etat physique.* — Le nuoc-mam d'Indochine se présente sous la forme liquide. Mais lorsqu'ils ont subi une concentration assez poussée, les hydrolysats de poisson peuvent être semi-liquides ou pâteux. Lorsqu'il s'agit de liquides, on notera la présence ou l'absence de trouble, de sédiment ou de substances surnageantes.

Dans tous les cas, les prises d'essais seront faites sur l'échantillon préalablement remué, afin de présenter une composition moyenne ; elles comprendront les sédiments lorsque la présence de ceux-ci sera constatée dans un produit liquide.

On relèvera la nature de l'odeur et de la saveur ; on notera, en particulier, la présence ou l'absence d'odeur étrangère ou anormale. La saveur s'apprécie sur le produit dilué dans l'eau chaude.

Pour les liquides, il peut être utile de déterminer la densité en vue de calculer à volonté les résultats p. 100 ml ou p. 100 g de produit. La densité de l'hydrolysat liquide est généralement de 1,1 à 1,2 environ (à 20° C).

*Examens microscopiques et bactériologiques.* — L'examen microscopique sert principalement à déceler la présence de bactéries et à en apprécier l'abondance ou la rareté. Il se pratique sur des frottis fixés et colorés. Après fixation et avant coloration, le frottis doit être soigneusement lavé à l'eau distillée afin d'éliminer le sel.

S'il y a lieu, l'examen microscopique sera complété par des essais de cultures pour numération des germes et recherche de bactéries putréfiantes ou pathogènes.

*pH.* — Le pH est évalué d'après les techniques habituelles : électrométrie ou colorimétrie. Pour les contrôles courants, la colorimétrie donne une indication suffisante. Le produit sera convenablement dilué dans l'eau distillée privée d'anhydride carbonique et on fera la mesure colorimétrique au comparateur, à cause de la coloration présentée ordinairement par la solution.

*Eau et résidu sec.* — Le résidu sec se détermine par évaporation sur bain-marie suivie de chauffage à l'étuve à 100-105° jusqu'à poids constant.

Lorsque l'hydrolysat est sirupeux ou pâteux, la prise est mélangée dans la capsule à dessiccation avec un poids déterminé de sable lavé et calciné.

*Matière organique totale.* — En raison de la proportion souvent importante de chlorures contenue dans les hydrolysats de poisson, nous indiquons ci-dessous le procédé qui nous paraît le meilleur pour doser les matières minérales (moins les chlorures) et la matière organique totale.

Après dessiccation, calciner au rouge vif la prise d'échantillon, sans chercher à éviter la volatilisation partielle des chlorures. Peser le résidu, lorsque la matière organique est complètement détruite.

Les cendres sont reprises par de l'eau chaude et, dans la solution ainsi obtenue,

on dose les chlorures par la méthode volumétrique directe de Mohr. Le résultat du dosage est exprimé en chlorure de sodium. En soustrayant du poids de cendres la dose de chlorures ainsi déterminée, on obtient le poids de cendres déchlorurées.

D'autre part, la proportion exacte de chlorures existant dans l'hydrolysate est dosée par voie humide comme il est indiqué ci-après. En ajoutant le poids exact de chlorures (exprimés en chlorure de sodium) au poids de cendres déchlorurées, on trouve le poids de matières minérales totales. Ce dernier poids retranché du résidu sec donne la matière organique.

*Chlorures.* — On opère sur une solution convenablement diluée, préparée à partir de l'hydrolysate ; les chlorures y sont dosés par la méthode de Charpentier-Volhard après destruction de la matière organique par une attaque nitro-permanganique. Nous avons en effet vérifié que cette opération améliore l'exactitude de la méthode.

Un volume convenable de solution d'hydrolysate est additionné d'un volume déterminé de liqueur titrée de nitrate d'argent puis d'acide nitrique et d'une petite quantité de permanganate de potassium. On porte le mélange à douce ébullition que l'on maintient jusqu'à clarification du liquide et agglomération du précipité de chlorure d'argent. Après filtration on effectue le titrage de la façon habituelle.

Les chlorures dosés sont exprimés en chlorure de sodium des deux manières suivantes :

- a) en grammes pour 100 g ou p. 100 ml de produit ;
- b) en grammes pour 100 g d'eau trouvée dans le produit.

Le second mode d'expression permet le mieux d'apprécier l'action possible de la concentration en chlorure de sodium du point de vue de la préservation de l'hydrolysate, quelle que soit la consistance ou la dilution de celui-ci.

*Azote total* — Le dosage de l'azote total se fait par la méthode de Kjeldahl sur une prise d'hydrolysate correspondant approximativement à 1,5 g de matière organique sèche. Pour effectuer la minéralisation, nous utilisons un catalyseur à base de sélénium et sulfate mercurique, selon une technique déjà décrite (2).

La teneur en azote total peut être exprimée de deux façons :

- a) en grammes p. 100 g ou p. 100 ml de produit ;
- b) en grammes p. 100 g de matière organique.

*Formes dégradées de l'azote.* — Pour un contrôle chimique courant, nous jugeons utile et suffisant de procéder au dosage global de chacun des groupes de corps azotés suivants :

- non-protéines (c'est-à-dire toutes les substances autres que les protéines naturelles) ;
- acides aminés ;
- substances volatiles basiques (ammoniacales et aminées).

Le pourcentage d'azote non protéique renseigne sur l'étendue de la désagrégation des protéines, tandis que le taux des aminoacides donne une indication sur la profondeur de cette dégradation. Quant à la proportion d'azote volatil basique, elle sert principalement à reconnaître si l'on ne se trouve pas en présence d'une décomposition d'origine bactérienne.

*Séparation des non-protéines.* — Les protéines sont précipitées par l'acide trichloracétique employé à la concentration de 4 %.

Pour la bonne exécution des divers dosages, il est préparé une solution contenant, quel que soit l'état physique du produit analysé, une quantité d'hydrolysât correspondant à un poids de matière organique compris entre 8 et 9 g par litre.

La quantité convenable d'hydrolysât est introduite dans un ballon jaugé d'un litre avec de l'eau. La solution d'hydrolysât est amenée à peu près au volume de 500 ml, puis on ajoute progressivement, et en agitant continuellement le ballon, 500 ml d'une solution d'acide trichloracétique à 8 %. On complète au trait de jauge avec de l'eau, on agite puis laisse en repos durant une demi-heure la fiole bouchée. On filtre.

Tous les dosages des formes dégradées de la matière azotée s'effectuent à partir du filtrat déprotéiné ainsi préparé. Les résultats peuvent être exprimés comme il suit :

- a) en grammes d'azote p. 100 g ou p. 100 ml de produit ;
- b) en poids d'azote dégradé p. 100 d'azote total.

Le second mode de calcul permet le mieux de comparer les qualités respectives de produits d'origine et de concentration diverses.

*Azote non protéique.* — Ce dosage s'effectue selon la méthode Kjeldahl sur le filtrat déprotéiné.

*Azote des aminoacides.* — Après étude de diverses méthodes, nous avons adopté le titrage au formol qui nous paraît capable de donner une bonne mesure du degré de dégradation, pourvu qu'il soit convenablement appliqué (3, 4, 5).

Le titrage au formol doit s'effectuer en présence d'un fort excès de ce réactif après élimination des phosphates et des carbonates à l'aide de chlorure de baryum et d'eau saturée de baryte. (25 ml de formol pour 50 ml de solution à titrer).

Juste avant addition de formol, la solution essayée doit être amenée au pH 7. Après addition de formol, on doit verser une liqueur décimale de soude jusqu'à obtention de pH 9. Le pH 7 correspond sensiblement au point de virage du rouge neutre au rose orangé. Le pH 9 peut être déterminé à l'aide de la phénolphtaléine en utilisant un étalon colorimétrique préparé selon la méthode de Michaelis : la concentration de l'indicateur dans l'étalon alcalinisé doit être le 1/6 de celle de l'essai. Cet étalon renferme le même volume de solution d'hydrolysât que l'essai, afin de tenir compte de la coloration de l'hydrolysât.

Le titrage au formol donne l'évaluation globale de l'azote des aminoacides et de l'azote ammoniacal. Cette dernière forme d'azote est titrée seule, également par le formol, dans un distillat obtenu à partir de la solution déprotéinée (voir ci-après). Par différence, on trouve la dose d'azote comptée comme azote des aminoacides.

*Azote des bases volatiles.* — Sous l'expression « azote basique volatil », nous comprenons l'azote des bases libres ou salifiées, distillables en présence d'une base fixe. Il est à remarquer à ce propos que la totalité de l'azote basique volatil est assez souvent désignée « azote ammoniacal » ; mais ce mode d'expression est impropre lorsqu'il s'agit de poissons et de produits préparés à partir de ceux-ci, car une partie des bases volatiles peut être constituée par des amines. Il convient cependant de noter que, dans les hydrolysats, la proportion d'azote des amines volatiles est généralement faible par comparaison avec celle de l'azote ammoniacal.

Au cours de l'opération de distillation, en plus des bases volatiles préexistantes, une certaine quantité d'ammoniac peut être formée par décomposition d'une fraction des substances organiques azotées. Afin de remédier à cette cause d'erreur, la distillation est effectuée en présence de magnésie et il est procédé à un titrage de correction.

Le titrage de la somme des bases volatiles est suivi d'un titrage au formol de l'azote ammoniacal seul. L'azote aminé volatil est représenté par la différence entre ces deux titrages. (Pour la description de la méthode, voir (2)).

*Urée et indol.* — Lorsque la qualité hygiénique d'un hydrolysate est douteuse, il peut être utile d'effectuer le dosage de l'urée et celui de l'indol.

L'urée se dose par la méthode au xanthidrol, après défécation au nitrate d'argent ou au chlorure de baryum.

L'indol se dose colorimétriquement par la réaction à la paradiméthylaminobenzaldéhyde dans le distillat obtenu après deux entraînements successifs à la vapeur.

Les résultats sont exprimés :

— pour l'urée : en azote uréique p. 100 d'azote total ;

— pour l'indol : en microgrammes d'indol p. 100 g (ou 100 ml) d'hydrolysate ou p. 100 g de matière organique.

#### INTERPRETATION DES RESULTATS D'ANALYSE

*Caractères organoleptiques et bactériologiques.* — L'état physique renseigne approximativement sur le degré de concentration. Suivant celui-ci, le produit se présente comme un liquide fluide ou visqueux ou comme une pâte molle ou ferme ; l'hydrolysate de poisson pur est rarement livré sous la forme solide (compacte ou pulvérulente).

Les hydrolysates liquides ne doivent pas contenir un abondant dépôt.

La couleur est généralement jaune, brune ou marron, plus ou moins claire ou foncée selon la concentration.

L'odeur ne doit pas être fétide, putride ni ammoniacale.

La saveur d'un produit concentré est ordinairement salée et amère. Après dilution, il ne doit être perçu aucune saveur repoussante.

D'après l'examen microscopique direct, les bactéries doivent être apparemment absentes ou rares.

*pH.* — Normalement les hydrolysates sont légèrement acides et leur pH compris entre 5 et 7.

*Sel.* — Les hydrolysates de poisson contiennent habituellement une dose de chlorure de sodium assez forte ; celle-ci est utile, surtout dans les produits de faible concentration, pour assurer la conservation. La plupart des bactéries cessent de se développer dans les milieux contenant 10 % de sel, mais certains microbes pathogènes supportent bien une teneur plus élevée. Dans une de nos études sur le salage (6), nous avons constaté la formation de cultures de staphylocoque dans du bouillon salé jusqu'à une teneur de 18 %.

Dans le cas du nuoc-mam, un degré de salage élevé est inhérent à la méthode de préparation ; il est indispensable pour éviter la putréfaction pendant la longue durée de macération du poisson.

Dans un produit liquide peu concentré, une teneur en chlorure de sodium com-

prise entre 20 et 25 g p. 100 ml est normale. Lorsque l'hydrolysate a subi une concentration, sa teneur en sel (rapportée à 100 g de produit) peut, sans inconvénient pour la conservation, être plus faible que dans un produit liquide. Cependant, sauf pour un produit très concentré, la proportion de chlorure de sodium ne doit pas descendre au-dessous de 20 p. 100 d'eau pour qu'une conservation prolongée soit possible.

D'un autre côté, une teneur excessive en sel nuit à la valeur alimentaire ; aussi la proportion de sel ne doit pas être supérieure à celle qui correspond à la teneur normale pour l'hydrolysate considéré avant concentration, compte tenu de la méthode de préparation. D'une façon générale, la teneur en chlorure de sodium ne doit pas excéder 25 g p. 100 g d'autolysate.

*Formes de l'azote.* — Conformément aux dispositions réglementaires relatives au nuoc-mam indochinois (7), on peut fixer à 1,5 g p. 100 ml le taux minimum d'azote total dans les hydrolysats liquides. Dans les produits semi-liquides ou pâteux, la teneur en azote augmente avec la concentration. Dans tous les cas, la proportion d'azote total calculée par rapport à la matière organique doit être de 14 à 17 %, si l'hydrolysate de poisson ne contient pas de substances étrangères en quantité notable. Une proportion d'azote p. 100 de matière organique inférieure à 14 fait présumer la présence de substances organiques non azotées ; un taux supérieur à 17 fait présumer la présence d'une proportion importante de corps azotés non protidiques.

Le pourcentage d'azote non protéique par rapport à l'azote total est au moins égal à 90 et même très voisin de 100, si la digestion a été bien faite.

Le taux d'azote des amino-acides par rapport à l'azote total est plus ou moins élevé selon le procédé de préparation. Certains produits sont analogues aux peptones, tandis que d'autres procèdent d'un travail enzymatique profond : dans le premier cas, le taux précité sera de 20 % environ, tandis que dans le second, il pourra atteindre et même dépasser 40 % ; normalement, il n'est jamais inférieur à 15 %.

Au point de vue chimique, le principal élément d'appréciation de la qualité hygiénique est fourni par la teneur en bases volatiles. Si la protéolyse est essentiellement due aux enzymes des glandes digestives, la proportion d'azote des bases volatiles doit être très inférieure à celle de l'azote des acides aminés ; l'inverse serait le signe d'un travail bactérien important (cf. Mesnard et Rosé, (8)). On ne saurait exiger l'absence complète de bases volatiles, attendu qu'il se forme normalement de l'ammoniac dans la digestion enzymatique réalisée *in vitro*. Pour une substance donnée, la quantité d'ammoniac libéré varie selon l'enzyme qui agit ; elle est beaucoup plus élevée avec la pepsine qu'avec la trypsine.

J. C. Peirier et Nguyen-Kim-Kinh (9) indiquent que la proportion d'azote volatil basique par rapport à l'azote total doit être de 13 à 15 % dans le nuoc-mam ; cependant, d'après les résultats d'analyses donnés par d'autres auteurs (1, 10), le taux précité serait assez souvent compris entre 20 et 30 % dans des nuoc-mam indochinois considérés comme normaux. Mais, nous estimons que si la digestion est convenablement conduite au lieu d'être abandonnée longtemps à elle-même comme dans la préparation indochinoise, il est possible de réduire sensiblement la formation d'ammoniac et de triméthylamine et d'obtenir une teneur en azote volatil inférieure à 10 p. 100 d'azote total. En prenant toutes les précautions utiles, le taux d'azote volatil peut même être abaissé au-dessous de 5 %.

Des auteurs précités (9) signalent la présence habituelle dans le nuoc-mam de 2 % environ d'azote uréique par rapport à l'azote total ; mais dans des autolysats bien

préparés, la proportion d'azote uréique doit être inférieure à ce taux et même à peu près nulle.

Un teneur en idiol inférieure à 50 microgrammes p. 100 g de matière organique est acceptable. Cependant, une dose plus élevée peut être trouvée dans des produits dont l'ensemble des caractères est convenable ; il est possible que la libération du tryptophane par la protéolyse facilite la formation de l'indol. Quoi qu'il en soit, le dosage de l'indol présente des aléas ; de même que celui de l'urée, il sera seulement utilisé pour appuyer d'autres déterminations dans les cas douteux.

En ce qui concerne les substances susceptibles de présenter des propriétés toxiques, mentionnons les deux observations suivantes :

- La recherche des ptomaines a été faite sans résultat positif dans divers échantillons d'autolysats français dont la teneur en azote basique volatil par rapport à l'azote total était approximativement de 3 % chez les uns et de 12 % dans d'autres (1).
- L'histamine a été trouvée dans le nuoc-mam indochinois à la dose moyenne de 0,7 mg par millilitre (11).

#### COMPOSITION D'AUTOLYSATS

Le tableau donne, à titre d'exemple, la composition de divers autolysats.

L'échantillon n° 1 est un nuoc-mam d'Annam, considéré comme de première qualité dans ce pays, et dont la composition est indiquée par E. Rosé (1).

Les autres échantillons ont été analysés au laboratoire de l'Office des Pêches : le n° 2 est un nuoc-mam provenant du Sénégal ; les n° 3 à 9 sont des autolysats industriels fabriqués en France métropolitaine. Le n° 4 résulte du traitement de très petits harengs pesant en moyenne 2,5 g environ ; les autres produits ont été préparés avec divers déchets de poissons.

Les échantillons précités ont été choisis comme représentant des produits de types variés parmi les nombreux autolysats examinés au laboratoire de l'Office.

Chez le n° 3 la dégradation de la matière azotée est peu profonde puisque le taux d'azote des aminoacides par rapport à l'azote total atteint à peine 20 %. Il s'agit d'un jus d'autolyse relativement peu riche en azote ; il doit être concentré avant livraison à la consommation, car sa teneur en chlorure de sodium est insuffisante pour sa conservation tel quel.

La teneur en acides aminés libres est élevée dans les échantillons 5 et 6 (environ 40 % par rapport à l'azote total) ; elle est particulièrement forte dans le n° 7 (plus de 50 %).

(1) On sait que le vocable « ptomaines » est utilisé pour désigner des bases organiques azotées provenant de la corruption des matières d'origine animale ; elles sont classées parmi les alcaloïdes. Les progrès de nos connaissances sur les toxines bactériennes ont beaucoup réduit l'importance accordée naguère aux ptomaines dans les intoxications alimentaires. La recherche chimique de ces corps repose sur la méthode d'extraction et de caractérisation des alcaloïdes : traitements successifs à l'alcool puis à l'éther suivis d'addition d'acide silicotungstique.

La recherche des ptomaines et la mise au point des procédés de dosage de l'urée et de l'indol ont été réalisées par Melle SOUDAN, chef du laboratoire de Chimie Analytique de l'Office des Pêches.

Les données numériques p. 100 de produit sont exprimées en grammes p. 100 ml des échantillons 1, 2, 3 et 5, et en grammes pour 100 g des autres échantillons.

Densité à 20° C : 1,188 pour le n° 2 ; 1,043 pour le n° 5.

34

| Déterminations               | 1           | 2           | 3           | 4           | 5           | 6             | 7             | 8           | 9          |
|------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|---------------|---------------|-------------|------------|
| Etat .....                   | Liquide     | Liquide     | Liquide     | Pâte        | Liquide     | Très visqueux | Très visqueux | Pâte        | Liquide    |
| Odeur .....                  | Sui generis   | Sui generis   | Sui generis | Fetide     |
| Bactéries .....              | —           | Absentes    | Absentes    | Absentes    | Absentes    | Absentes      | Absentes      | Absentes    | Fréquentes |
| pH .....                     | —           | 6,4         | 5,5         | 5,8         | 5,2         | 5,6           | 5,5           | —           | 5          |
| p. 100 de produit :          |             |             |             |             |             |               |               |             |            |
| Eau .....                    | 81,85       | 76,48       | 89,55       | 25,77       | 88,31       | 33,67         | 30,03         | 13,19       | 48,56      |
| Cendres déchlorurées .....   | 0,01        | 0,80        | 1,17        | 5,88        | 0,84        | 5,34          | 3,40          | 3,43        | 2,00       |
| Chlorure de sodium .....     | 28,14       | 22,00       | 5,48        | 6,92        | 1,85        | 11,87         | 10,32         | 32,73       | 7,70       |
| Matière organique .....      | 12,00       | 19,53       | 11,82       | 61,82       | 9,00        | 49,12         | 56,25         | 50,65       | 41,74      |
| Azote total .....            | 2,04        | 2,89        | 1,87        | 8,69        | 1,30        | 7,80          | 7,87          | 7,36        | 6,22       |
| p. 100 d'eau :               |             |             |             |             |             |               |               |             |            |
| Chlorure de sodium .....     | 34,4        | 28,80       | 6,12        | 26,85       | 2,09        | 35,2          | 34,36         | 248,2       | 15,87      |
| p. 100 d'azote total :       |             |             |             |             |             |               |               |             |            |
| Azote non protéique .....    | —           | 98,89       | 89,44       | 99,52       | 100         | 100           | 100           | 96,48       | 95,77      |
| Azote des aminoacides .....  | 37,9        | 54,35       | 19,86       | 29,83       | 40,15       | 43,05         | 53,83         | 36,92       | 27,23      |
| Azote basique volatil .....  | 21,2        | 16,93       | 3,24        | 4,64        | 4,23        | 3,80          | 6,39          | 9,80        | 11,60      |
| Azote ammoniacal .....       | —           | 16,86       | 3,17        | 3,89        | 3,61        | 3,66          | 6,37          | 9,32        | 11,09      |
| Azote aminé volatil .....    | —           | 0,07        | 0,07        | 0,75        | 0,62        | 0,14          | 0,02          | 0,48        | 0,51       |
| Azote uréique .....          | —           | —           | —           | —           | 1,69        | 0             | —             | 1,67        | 1,87       |
| p. 100 g de mat. organique : |             |             |             |             |             |               |               |             |            |
| Azote total (g) .....        | 17          | 14,79       | 15,81       | 14,06       | 14,44       | 15,88         | 14,00         | 14,53       | 14,9       |
| Indol (microg) .....         | —           | 2300        | 50          | 10          | 300         | 200           | 13            | 50          | 130        |

Les n°5 et 6 sont des produits comparables appartenant à une même fabrication ; mais le n° 5 provient directement de la cuve d'autolyse et n'a subi qu'une filtration à la sortie de celle-ci, tandis que le n° 6 a été concentré et se trouve en état d'être livré aux utilisateurs. En plus des corps indiqués dans le tableau, cet échantillon contient 0,36 % de graisse <sup>(1)</sup>.

Pour le n° 4, le degré de digestion est intermédiaire mais la concentration est forte, d'où une teneur élevée en azote total.

Le n° 8 est un produit médiocre. Le n° 9 ne peut convenir à l'alimentation humaine en raison de ses caractères défectueux (teneur en azote volatil supérieure à 10 % par rapport à l'azote total ; odeur et saveur nettement désagréables ; bactéries assez nombreuses).

### CONDITIONS DE L'HYDROLYSE ENZYMATIQUE DIRIGEE

Les facteurs de l'hydrolyse doivent être réglés afin de permettre une activité intense des enzymes digestifs tout en empêchant la propagation des bactéries.

Il y a particulièrement intérêt à opérer à une température aussi élevée que possible et située dans le voisinage de la limite supérieure ou même légèrement au-dessus de la zone de température favorable aux bactéries. On sait que la température maximum pour le développement de nombreuses bactéries est de 45° environ. Toutefois, les bactéries marines se propagent généralement dans une zone de température inférieure à celle qui convient aux bactéries terrestres ou d'eau douce ; pour la plupart, l'optimum est de 20° environ et le maximum de 30 à 37° (12).

En ce qui concerne les protéases du poisson, la température la plus favorable serait approximativement de 40°. Aux environs de 50°, l'activité des enzymes peut être tout d'abord assez intense, puis elle diminue. Ce phénomène ne constitue pas un grave inconvénient, étant donné qu'il est préférable de ne pas prolonger la durée d'autolyse afin de réduire les risques de contamination bactérienne et de corruption. De toute façon, les enzymes ne peuvent pas réaliser *in vitro* une hydrolyse complète du fait de l'équilibre vers lequel tend la réaction fermentaire.

Du point de vue bactériologique, il est indiqué de pratiquer l'autolyse en milieu acide, puisque, d'une manière générale, les bactéries se développent le mieux dans les milieux neutres ou faiblement alcalins. Toutefois, l'acidité doit être suffisamment élevée (pH inférieur à 4,5) pour limiter les dangers de la pollution bactérienne.

D'autre part, il y a lieu de tenir compte de la réaction propice à la protéolyse enzymatique. Les protéases des poissons, de même que celles des vertébrés supérieurs, présentent une activité maximum à des pH variables selon leur origine. La pepsine requiert une forte acidité (pH optimum 2,5 environ). La trypsine (en provenance du pancréas ou des appendices pyloriques) agit le mieux en milieu alcalin, mais possède une certaine activité jusqu'à pH 5. Les protéases endocellulaires des tissus musculaires des poissons semblent surtout actives avec une acidité modérée <sup>(2)</sup>.

En somme, la production de l'autolysat pourra se faire dans une zone de pH comprise entre 2 et 6 ; puisque le pH optimum varie avec l'enzyme, il y aura avantage à modifier le degré d'acidité au cours de la digestion, si l'on désire que celle-ci soit rela-

<sup>(1)</sup> En raison de sa faible teneur en sel, le n° 5 a été additionné d'un antiseptique pour sa préservation durant le transport de l'usine au laboratoire.

<sup>(2)</sup> Dans une autre étude, nous nous proposons de préciser les caractères des différentes protéases des poissons.

tivement profonde. D'ailleurs, lorsque l'acidité initiale est élevée, le pH a tendance à s'élever spontanément sous l'effet tampon des protides dégradés qui entrent en solution ; un contrôle permanent du pH est donc nécessaire.

Afin d'obtenir un bon rendement, la matière mise en œuvre doit contenir une proportion convenable d'organes digestifs par rapport à la masse de tissus à solubiliser. Sous cette réserve, il est possible d'utiliser des poissons et des déchets de poissons variés (surplus ou rebuts de la pêche, poissons blessés ou écrasés, têtes, viscères, déchets de parage ou de mise en filets). Toutefois, les espèces appartenant aux groupes des squales ou des raies conviennent moins bien que les poissons à squelette osseux, car leur autolysat peut présenter une odeur et une saveur désagréables.

Quelle que soit la sorte de matière première mise en œuvre, celle-ci doit être en excellent état de fraîcheur, (ou en parfait état de conservation, si elle a subi un long transport ou un entreposage avec l'aide du froid ou d'un autre agent de préservation). Les parties de poisson utilisées pour l'autolyse sont particulièrement putrescibles ; si elles étaient largement contaminées dès le début de la digestion, il ne serait pas possible d'éviter une importante action bactérienne.

La matière à traiter est hachée et broyée avant introduction dans la cuve d'autolyse ; celle-ci est pourvue d'un agitateur pour assurer la dissémination des enzymes et leur contact avec les tissus traités. La durée de l'autolyse est susceptible de varier beaucoup avec les modalités de l'opération ; elle est ordinairement de plusieurs heures.

Si les conditions sont convenablement choisies, il n'est pas nécessaire d'effectuer la digestion sous la protection d'antiseptiques ou d'une dose élevée de sel ; il est même préférable de ne pas saler fortement afin de ne pas ralentir l'activité des enzymes.

A la fin de l'autolyse, on recueille le produit liquide en laissant de côté les fragments de squelette ainsi que les tissus non digérés ; la substance minérale pourra être utilisée pour l'alimentation animale. La séparation des matières indigérées d'avec les liquides peut être obtenue rapidement au moyen d'uneessoreuse.

Le jus azoté est chauffé à 100° pour tuer les ferments et arrêter la dégradation. En outre, il doit être séparé de l'huile de poisson ; à cet effet, la centrifugation est recommandable.

Si l'autolysat obtenu est fortement acide, il est amené au voisinage de la neutralité.

On effectue enfin une filtration et une concentration afin d'obtenir un produit entièrement soluble, riche en azote et de bonne conservation.

La filtration se fait couramment au filtre-pressé. Elle peut être précédée d'une décoloration et d'une désodorisation à l'aide de charbon activé ; mais ce traitement n'est pas indispensable si l'autolyse est pratiquée dans de bonnes conditions.

La filtration peut être remplacée par une seconde centrifugation ; ce mode d'épuration offre l'avantage d'éviter le risque de contamination bactérienne par l'intermédiaire de la toile filtrante.

La concentration par évaporation est faite avec un chauffage modéré dans un appareil fonctionnant sous vide.

L'autolysat concentré contient ordinairement moins de 45 % d'eau, plus de 6 % d'azote et moins de 0,5 % de corps gras.

La méthode enzymatique est utilisable pour la préparation, à partir de foies de poissons, d'une part d'un extrait protidique et d'autre part d'une huile vitaminée. Si l'on traite uniquement des foies séparés des autres organes de l'appareil digestif, il convient

d'ajouter une protéase ; on réalise alors une hétérolyse et non plus une autolyse proprement dite, puisque l'on fait intervenir d'autres enzymes que ceux existant dans la matière soumise à la digestion. Cette méthode permet l'extraction de l'huile avec un excellent rendement du fait de la désagrégation des tissus qui la renferment.

On peut observer des variantes plus ou moins importantes dans l'application des principes généraux qui viennent d'être exposés ; des brevets protègent les divers procédés proposés à l'industriel. Quelle que soit la technique, il importe toujours d'assurer le maintien de la propreté et des conditions d'hygiène de l'atelier, des appareils de fabrication et de tout le matériel employé pour la récolte et le transport de la matière première ainsi que pour son traitement. Il faut aussi que les opérations qui se succèdent entre la digestion et la concentration finale soient conduites sans interruption et aussi rapidement que possible.

### HYDROLYSATS CHIMIQUES DE FARINES DE POISSON

Outre les hydrolysats enzymatiques précédemment étudiés, l'industrie peut fournir des produits qui résultent d'une hydrolyse chimique (acide ou alcaline). Les autolysats sont préparés à partir de matière fraîche tandis que l'hydrolyse chimique peut être pratiquée sur des matières desséchées telles que les farines de poisson. Cette méthode facilite la fabrication, car les déchets utilisés sont simplement transformés en farine, à proximité du port de pêche, par les procédés usuels ; cette farine peut ensuite être entreposée un certain temps sans danger d'altération puis transportée commodément dans une usine spécialement équipée pour l'hydrolyse.

Pour que le produit final convienne à l'alimentation humaine, il importe d'employer une farine de bonne qualité. Elle doit avoir été fabriquée soigneusement avec des poissons ou des déchets de poissons non altérés ; son état de conservation doit être très satisfaisant ; elle doit être suffisamment riche en protéine et capable de donner un hydrolysats de saveur acceptable.

Voici les caractères d'une bonne farine pour hydrolysats :

- Absence de moisissures et de particules étrangères.
- Couleur claire.
- Odeur sui generis peu accusée, non ammoniacale ni fétide.
- Teneur en eau : 10 % maximum ; un degré suffisant de déshydratation est nécessaire pour assurer la conservation.
- Cendres (chlorure de sodium déduit) : 20 % maximum.
- Chlorure de sodium : 3 % maximum.
- Carbonate de calcium : 1,5 % maximum ; une teneur élevée en substances calcaires aurait pour effet de donner une saveur désagréable aux produits préparés par hydrolyse chlorhydrique.
- Matières grasses : 7 % maximum ; celles-ci sont nuisibles à cause du mauvais goût que peuvent donner les acides gras du poisson.
- Azote total : 9 % minimum, soit protéines : 56 % minimum.
- Azote basique volatil : 0,2 p. 100 de farine, maximum ; ce taux limite donne une garantie sur la qualité hygiénique de la farine.

Le tableau ci-après donne la composition d'un échantillon de produit industriel obtenu par hydrolyse acide de farine de poisson et celle d'un concentré pour bouillon, livré dans le commerce et contenant une certaine proportion d'hydrolysate de poisson ainsi que divers ingrédients.

Le premier produit est une pâte dure, de couleur marron, ayant l'odeur sui generis des extraits carnés.

Le bouillon condensé est sous forme de poudre, de teinte ocrée ; l'odeur d'extrait carné est dominée par celle de végétaux aromatiques.

Les deux échantillons donnent respectivement les pH 5,5 et 5 environ. L'examen microscopique direct n'y révèle pas la présence de bactéries.

| Déterminations               | Hydrolysate chimique | Bouillon concentré |
|------------------------------|----------------------|--------------------|
| p. 100 de produit :          |                      |                    |
| Eau .....                    | 8,09                 | 2,06               |
| Cendres déchlorurées .....   | 0,84                 | 1,39               |
| Chlorure de sodium .....     | 50,77                | 53,84              |
| Matière organique .....      | 40,30                | 42,71              |
| Azote total .....            | 6,12                 | 5,53               |
| p. 100 d'azote total :       |                      |                    |
| Azote non protéique .....    | 95,43                | 96,83              |
| Azote des aminoacides .....  | 59,86                | 50,54              |
| Azote basique volatil .....  | 12,44                | 8,83               |
| Azote ammoniacal .....       | 12,42                | 8,64               |
| Azote aminé volatil .....    | 0,02                 | 0,19               |
| p. 100 g de mat. organique : |                      |                    |
| Azote total (g) .....        | 15,19                | 12,95              |
| Indol (microg) .....         | 25                   | 85                 |

L'hydrolyse acide peut aisément libérer une forte proportion d'acides aminés (environ 60 % d'azote aminoacide par rapport à l'azote total dans l'échantillon examiné). Toutefois, l'hydrolysate chimique peut être appauvri en certains acides aminés (tryptophane notamment dans le cas de l'hydrolyse acide), par suite d'une destruction plus ou moins complète par le réactif acide ou basique. L'hydrolyse acide ou alcaline peut aussi provoquer la destruction de facteurs de croissance (13). Du point de vue de la nutrition, l'hydrolysate chimique peut donc avoir une efficacité inférieure à celle de la protéine naturelle dont il provient ; la valeur alimentaire du produit est susceptible de varier suivant la plus ou moins grande brutalité du procédé d'hydrolyse.

D'autre part, il y a lieu de remarquer que, même pour des produits convenablement préparés, la proportion d'azote ammoniacal peut être relativement élevée, car la formation d'ammoniac est normalement plus importante dans l'hydrolyse chimique que dans l'hydrolyse enzymatique. En outre, la neutralisation du réactif mis en œuvre peut entraîner la présence d'une importante proportion de chlorure de sodium.

## UTILISATION DES HYDROLYSATS

En raison de leur constitution et de leurs caractères organoleptiques spéciaux, les hydrolysats de poisson ne sont généralement pas consommés à l'état pur ni en forte quantité, mais ils peuvent, de multiples façons, servir d'ingrédients.

Leur principale utilisation se trouve dans la préparation de bouillons concentrés et de potages comprimés. Ils sont alors mélangés à des substances variées pouvant notamment comprendre : autolysat de levure, extrait de viande, hydrolysats de déchets d'animaux de boucherie, légumes séchés et broyés, poudres végétales aromatiques.

L'hydrolysats de poisson peut être incorporé dans des farces à sandwich ou dans des sauces et être ajouté, comme condiment, à des aliments divers (légumes, pâtes, semoules, etc...).

L'hydrolysats de poisson peut aussi entrer dans la préparation d'aliments composés pour animaux.

En plus des hydrolysats alimentaires examinés dans la présente étude, le poisson peut donner des peptones officinales. Celles-ci sont préparées avec des espèces à chair blanche. Les organes digestifs du poisson ne sont ordinairement pas employés dans ce genre de fabrication, car le laboratoire pharmaceutique est généralement éloigné des lieux de pêche et les viscères pourraient se trouver largement contaminés par les bactéries du fait de la longueur du transport. La peptonisation est obtenue par addition de ferments (pepsine, trypsine ou papaïne). Le produit est desséché par évaporation sous vide ou par atomisation.

\* \*

Il ressort des résultats d'observations et d'analyses exposés ci-dessus que la composition et la qualité des hydrolysats de poisson peuvent être très variables. Des garanties sur la valeur hygiénique de ces produits doivent donc être données au consommateur.

Il est particulièrement désirable que les nuoc-mam et autres protéolysats préparés dans les pays tropicaux soient de bonne qualité afin de fournir un appoint à une ration alimentaire susceptible d'être déficiente en protides d'origine animale.

En France métropolitaine, la fabrication d'hydrolysats à partir de déchets de poisson est soumise au contrôle exercé par l'Office des Pêches Maritimes en application de la loi du 18 juillet 1941 relative à l'utilisation des sous-produits de la pêche.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. ROSE (E) — Un mode Indo-Chinois d'utilisation du poisson : le « Nuoc-mam ». *Bul. Soc. Hyg. Alim.*, 1921, 9, 547-557.
2. BOURY (M) — Le contrôle de la qualité hygiénique du poisson de conserve. *Rev. Trav. Office Pêches Marit.*, 1945, 13, 599-626.
3. NORTHROP (J. H.) — A convenient method for the formol titration. *J. Gen. Physiol.* 1926, 9, 767-769.
4. VAN SLYKE (D. D.) and KIRK (E) — Comparison of gazometric, colorimetric and titrimetric determination of amino nitrogen in blood and urine. *J. Biol. Chem.*, 1933, 102, 651-682.
5. LEVY (M) — The acidity of formaldehyde and the end point in the formol titration. *J. Biol. Chem.*, 1934, 105, 157-165.

6. BOURY (M) — Recherches sur la morue salée.  
Rev. Trav. Office Pêches Marit., 1932, 5, 297-309.
7. Décret du 26 avril 1933 — Définition du nuoc-mam et du nuoc-nhut. Méthode officielle d'analyse.  
Ann. Falsif. Fraudes., 1933, 26, 305-309.
8. MESNARD (J) et ROSE (E) — Recherches complémentaires sur la fabrication du nuoc-mam.  
Ann. Inst. Pasteur, 1920, 34, 622-649.
9. PEIRIER (J. C.) et NGUYEN-KIM-KINH — Dosage rapide des acides aminés et des polypeptides dans le nuoc-mam.  
Ann. Falsif. Fraudes, 1933, 26, 6-18.
10. FROIDEVAUX (J) — Le Nuoc-Mam.  
Ann. Falsif. Fraudes, 1926, 19, 326-335.
11. LEGROUX (R), LEVADITI (J. C.) et BOVET (D) — Présence d'histamine dans du nuoc-mam conservé au laboratoire.  
C. R. Soc. Biologie, 1946, 140, 864-866.
12. ZOBELL (C. E.) — Marine Microbiologie, 1946.  
Waltham, Mass., U.S.A.
13. BOURGEAT (Mlle J) — Efficacité comparée de la caséine et de ses acides aminés constitutifs.  
C. R. Acad. Sciences, 1948, 226, 837-838.
14. LECLERC — Le nuoc-mam.  
Rev. Intendance Militaire, 3<sup>me</sup> trimestre 1949, 45-55.
15. LAFONT (R) — L'industrie du nuoc-mam au Cambodge.  
Institut Océanographique de l'Indochine, Bul. économique 1950, Contribution n° 3 ; C. R. Congrès des Pêches dans l'Union Française d'Outre-Mer, Marseille 1950.
16. ARNOUX (J) — Un allié souhaitable dans notre lutte contre la sous-alimentation azotée en A.O.F. : le nuoc-mam ou saumure de poisson indochinoise.  
Service Élevage et Industries animales du Sénégal, Section Technique des Pêches, Bul. d'Information et de Documentation, n° 8 et 9, 1950.
17. BLASS (Melle J) — Etude chromatographique du nuoc-mam.  
Ann. Inst. Pasteur, 1952, 83, 791-799.
18. SCHAEFFER et LE BRETON (Melle) — Autolysats de poissons. The Technology of Herring Utilization.  
Report of the FAO Meeting on Herring Technology, Bergen, sept 1950. Fiskeridirektoratets Skrifter. Série Fiskeri, v. 2, n° 1, 1953, 154-159.
19. CREACH (P. V.) — Composition et utilisation des aliments protidiques liquides retirés du poisson.  
Congrès inter. d'Etudes sur le rôle du Poisson dans l'Alimentation, Paris, 1950; Office Pêches Marit., Notes et Rap., n. s., n° 7.
20. TAKAHASHI (T) — Utilization of fish protein. — I. Hydrolysis of codfish meal by hydrochloric acid. — II. Details of hydrolysis of codfish meal and treatment of hydrolyzed product.  
J. Soc. Chem. Ind. Japan, 1941, 44, 712-717 ; Chem. Abst., 1948, 42, 2031.
21. NGO-BA-THANH . . Un condiment azoté : Le « Nuoc-Mam »  
Thèse vétérinaire. Lyon, 1953.