

Université
de Toulouse

THÈSE

En vue de l'obtention du
DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par :
Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse)

Discipline ou spécialité :
Sciences des Agroressources

Présentée et soutenue par :
Sylvain FORET

le : vendredi 16 décembre 2011

Titre :
Etude d'un nouveau procédé de fractionnement des co-produits de fabrication de jambon sec et des propriétés physico-chimiques et fonctionnelles des extraits et raffinats

Ecole doctorale :
Sciences de la Matière (SDM)

Unité de recherche :
Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle (LCA) - UMR 1010 INRA/INPT - ENSIACET

Directeur(s) de Thèse :
Luc Rigal - Ingénieur de Recherche - LCA - ENSIACET - INP de TOULOUSE
Gérard VILAREM - Ingénieur de Recherche - LCA - ENSIACET - INP de TOULOUSE

Rapporteurs :
Farid CHEMAT - Professeur - Université d' Avignon
Mohamed GHOUL - Professeur - INPL - ENSAIA - Nancy

Membre(s) du jury :
Alain PERIQUET - Professeur - Université de Toulouse, Président
Driss ELOTHMANI - HDR - Enseignant-Chercheur - ESA - Angers, Membre
Luc Rigal - Ingénieur de Recherche - LCA - ENSIACET - INP de TOULOUSE, Membre
Gérard VILAREM - Ingénieur de Recherche - LCA - ENSIACET - INP de TOULOUSE, Membre
Farid CHEMAT - Professeur - Université d' Avignon, Rapporteur
Mohamed GHOUL - Professeur - INPL - ENSAIA - Nancy, Rapporteur

Sommaire

REMERCIEMENTS	5
INTRODUCTION	11
1. LES CO-PRODUITS DE L'INDUSTRIE DE CHARCUTERIE DE PORC : PRODUCTION, VALORISATION ET COMPOSITION	13
1.1. L'INDUSTRIE DES PRODUITS CARNES	15
1.1.1. Production de viande	16
1.1.1.1. Le marché mondial	16
1.1.1.2. Le marché français	16
1.1.2. La production de charcuterie de porc	17
1.1.2.1. Le marché mondial	17
1.1.2.2. Le marché français	18
1.1.3. Les co-produits de l'industrie des produits carnés	21
1.1.4. La production de farines animales	25
1.1.4.1. Intérêt des farines animales	25
1.1.4.2. La crise de l'Encéphalopathie Spongiforme Bovine (ESB)	26
1.1.4.3. Réglementation et incidence sur la filière	29
1.1.4.4. Les procédés de fabrication de farines animales	30
1.1.5. Les voies de valorisation des co-produits de l'industrie des produits carnés	35
1.1.5.1. La fabrication de concentré de protéines pour animaux de compagnie (Pet Food)	35
1.1.5.2. La fabrication de matières grasses	37
1.1.5.3. La fabrication de gélatine	39
1.1.5.4. La fabrication de produits à haute valeur ajoutée	43
1.1.5.5. La production d'énergie, de compost et d'engrais fertilisants	45
1.2. LES CO-PRODUITS DE LA FABRICATION INDUSTRIELLE DU JAMBON	47
1.2.1. La production industrielle de « jambons »	47
1.2.2. Etat des connaissances sur les constituants des co-produits de fabrication du jambon	51
1.2.2.1. Structure et composition de l'os	51
1.2.2.2. Structure et composition des cartilages, tendons et ligaments	55
1.2.2.3. Structure et composition des muscles et matières grasses	58
1.3. LES CONSTITUANTS CHIMIQUES DES CO-PRODUITS DE LA FABRICATION DU JAMBON	61
1.3.1. La fraction protéique	62
1.3.1.1. Les collagènes, protéines majoritaires des os, cartilages, ligaments et tendons	62
1.3.1.2. Les protéines du muscle	65
1.3.2. La fraction matières grasses	68
1.3.3. La fraction minérale	69
1.3.4. La fraction protéoglycane	70
1.3.5. Les autres fractions minoritaires	75
1.4. CONCLUSION	77
2. CARACTERISATION DE LA MATIERE PREMIERE	81
2.1. REPARTITION DES PRINCIPAUX CONSTITUANTS DU CO-PRODUIT DE JAMBON SEC	82
2.1.1. Caractéristiques générales du co-produit de jambon sec	82
2.1.2. Répartition en lipides, protéines et matières minérales du co-produit de jambon sec	84
2.2. CARACTERISATION DE LA FRACTION PROTEIQUE DU CO-PRODUIT DE JAMBON SEC	85
2.3. CARACTERISATION DE LA FRACTION LIPIDIQUE DU CO-PRODUIT DE JAMBON SEC	93
2.4. CARACTERISATION DE LA MATIERE MINERALE DU CO-PRODUIT DE JAMBON SEC	98
2.5. CARACTERISATION DE CONSTITUANTS MINORITAIRES DU CO-PRODUIT DE JAMBON SEC	100
2.5.1. Les glycosaminoglycane (GAG)	101
2.5.2. Les composés aromatiques	101
2.6. CONCLUSION	103
3. ETUDE DU FRACTIONNEMENT AQUEUX DES CO-PRODUITS DE JAMBON SEC	105
3.1. ADAPTATION DU PROCEDE DE FRACTIONNEMENT AQUEUX AUX CO-PRODUITS DE JAMBON SEC	107
3.2. BROYAGE DES CO-PRODUITS DE JAMBON SEC	110
3.3. ETUDE DE L'INFLUENCE DES PRINCIPAUX FACTEURS SUR LE FRACTIONNEMENT AQUEUX DES CO-PRODUITS DE JAMBON SEC	114

3.3.1.	<i>La granulométrie du solide</i>	114
3.3.2.	<i>La nature du solvant de fractionnement</i>	116
3.3.3.	<i>La température, le ratio liquide/solide et la durée de contact</i>	117
3.4.	ETUDE DE L'INFLUENCE DE LA TEMPERATURE, DU RATIO LIQUIDE/SOLIDE ET DE LA DUREE DE CONTACT SUR L'EXTRACTION DES LIPIDES, DES PROTEINES ET DES GAG DU CO-PRODUIT DU JAMBON SEC ...	123
3.4.1.	<i>Choix du protocole et du domaine expérimental</i>	123
3.4.2.	<i>Dépouillement du plan d'expérience</i>	128
3.4.3.	<i>Analyse des surfaces de réponse</i>	130
3.4.3.1.	Rendement en matières sèches extraites et séparées	130
3.4.3.2.	Rendement en lipides et en protéines extraits et séparés.....	136
3.4.3.3.	Rendement en glycosaminoglycannes extraits dans la phase aqueuse	140
3.5.	CONCLUSIONS POUR LE CHOIX DES CONDITIONS OPERATOIRES DU FRACTIONNEMENT AQUEUX DES CO-PRODUITS DE JAMBON SEC	142
4.	CARACTERISATION ET ETUDE DES PROPRIETES FONCTIONNELLES DES FRACTIONS ISSUES DU FRACTIONNEMENT AQUEUX DU CO-PRODUIT DE JAMBON SEC	147
4.1.	PRODUCTION A L'ECHELLE PILOTE DES FRACTIONS ISSUES DU FRACTIONNEMENT AQUEUX DES CO-PRODUITS DE JAMBON SEC	148
4.2.	CARACTERISATION DE LA FRACTION PROTEINES SOLUBILISEES (FPS)	153
4.2.1.	<i>Caractérisation chimique de l'extrait FPS lyophilisé</i>	154
4.2.1.1.	Caractérisation des lipides de l'extrait FPS lyophilisé	154
4.2.1.2.	Caractérisation de la fraction minérale de l'extrait FPS lyophilisé	155
4.2.1.3.	Caractérisation des protéines de l'extrait FPS lyophilisé	156
4.2.2.	<i>Caractérisation physico-chimique de la FPS</i>	161
4.2.2.1.	Propriétés rhéologiques de la FPS en solution dans l'eau	161
4.2.2.2.	Propriétés interfaciales de la FPS.....	165
4.2.2.3.	Propriétés thermiques et thermomécaniques de la fraction FPS.....	167
4.2.3.	<i>Propriétés fonctionnelles et perspectives d'application de la FPS</i>	170
4.2.3.1.	Source de peptones pour la culture de champignons et levures	170
4.2.3.2.	Adhésif naturel.....	172
4.2.3.3.	Autres voies de valorisation	172
4.3.	CARACTERISATION DE LA FRACTION MATIERE GRASSE DECANTEE (FMGD).....	174
4.3.1.	<i>Caractérisation chimique de la FMGD</i>	174
4.3.2.	<i>Caractéristiques physicochimiques de la FMGD</i>	176
4.3.3.	<i>Propriétés fonctionnelles et perspectives d'application de la FMGD</i>	177
4.3.3.1.	Valorisation pour l'alimentaire	177
4.3.3.2.	Valorisation pour l'énergie	183
4.3.3.3.	Valorisation lipochimique.....	183
4.4.	CARACTERISATION DE LA FRACTION GRANULAT PROTEO-MINERAL (GPM).....	185
4.4.1.	<i>Caractérisation physico-chimique de la GPM</i>	185
4.4.1.1.	Caractérisation des minéraux du GPM.....	185
4.4.1.2.	Caractérisation des lipides du GPM.....	186
4.4.1.3.	Caractérisation des protéines du GPM	187
4.4.2.	<i>Propriétés fonctionnelles et perspectives d'application du GPM</i>	191
4.4.2.1.	Fractionnement du GPM pour l'obtention de gélatine et de colle d'os	191
4.4.2.2.	Transformation du GPM en matériau.....	193
4.5.	CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES POUR LE PROCEDE DE FRACTIONNEMENT AQUEUX DE CO-PRODUIT DE JAMBON SEC.....	197
4.5.1.	<i>Fractionnement aqueux des co-produits de jambon sec en extrudeuse bi-vis</i>	198
4.5.2.	<i>Conclusion</i>	201
	CONCLUSION GENERALE.....	205
5.	PARTIE EXPERIMENTALE : MESURES ANALYTIQUES.....	211
5.1.	METHODES ANALYTIQUES.....	211
5.1.1.	<i>Détermination de la matière sèche</i>	211
5.1.2.	<i>Analyse des minéraux</i>	211
5.1.2.1.	Dosage des minéraux	211
5.1.2.2.	Détermination de la teneur en sel.....	211
5.1.3.	<i>Analyse des protéines</i>	212
5.1.3.1.	Dosage des protéines par la méthode de Kjeldahl	212
5.1.3.2.	Composition en acides aminés	214
5.1.3.3.	Dosage du collagène	215

5.1.3.4.	Séparation des protéines en fonction de leur solubilité	215
5.1.3.5.	Solubilité des protéines	216
5.1.4.	<i>Analyse des lipides</i>	216
5.1.4.1.	Dosage de la matière grasse	216
5.1.4.2.	Détermination du profil d'acides gras	217
5.1.4.3.	Détermination de l'indice d'iode	217
5.1.4.4.	Détermination de l'indice d'acide	218
5.1.4.5.	Indice de peroxyde	218
5.1.4.6.	Indice de saponification	219
5.1.4.7.	Dosage des triglycérides	219
5.1.4.8.	Dosage des stérols	220
5.1.4.9.	Dosage des insaponifiables	221
5.1.5.	<i>Analyse des arômes</i>	222
5.1.5.1.	Extraction des arômes	222
5.1.5.2.	Etude de l'interaction arômes-protéines	223
5.1.5.3.	Analyse des arômes	224
5.1.5.4.	Etude des interactions arômes-protéines – analyse statistique	226
5.1.6.	<i>Analyse des glycosaminoglycanes sulfatés</i>	227
5.2.	CARACTERISATIONS PHYSICO-CHIMIQUES ET MECANIQUES	229
5.2.1.	<i>Propriétés moussantes</i>	229
5.2.2.	<i>Propriétés émulsionnantes</i>	229
5.2.3.	<i>Rhéologie en phase fondue</i>	230
5.2.4.	<i>DSC</i>	230
5.2.5.	<i>Analyse thermique mécanique</i>	231
5.2.6.	<i>Essais mécaniques</i>	231
5.2.6.1.	Essais en traction (pour la détermination du pouvoir collant)	232
5.2.6.2.	Essais en flexion	233
5.2.7.	<i>Mise en forme des granulats par thermopressage</i>	233
5.2.8.	<i>Fabrication de savon</i>	234
5.3.	TECHNIQUES D'EXTRACTION ET DE CONCENTRATION	234
5.3.1.	<i>Obtention de la colle d'os</i>	234
5.3.2.	<i>Obtention de la gélatine</i>	235
5.3.3.	<i>Mesure de la viscosité</i>	235
5.3.4.	<i>Casting</i>	236
5.3.5.	<i>Milieu de culture</i>	236
5.3.6.	<i>Lyophilisation</i>	236
5.3.7.	<i>Extrusion</i>	237
5.4.	TECHNIQUES D'OBSERVATION	238
5.4.1.	<i>Loupe binoculaire</i>	238
5.4.2.	<i>Microscopie optique des phases liquides</i>	238
5.4.3.	<i>Microscope électronique à balayage des solides</i>	239
5.5.	DEPOUILLEMENT DU PLAN D'EXPERIENCES	240
5.5.1.	<i>Rendement en matière sèche extraite RMSE</i>	240
5.5.2.	<i>Rendement en matière sèche extraite RMGSD</i>	242
5.5.3.	<i>Rendement en matière sèche extraite RMSSF</i>	243
5.5.4.	<i>Rendement en matière sèche extraite RL</i>	245
5.5.5.	<i>Rendement en matière sèche extraite RP</i>	246
5.5.6.	<i>Rendement en matière sèche extraite RGAG</i>	248
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	251
	LISTE DES ABREVIATIONS	263
	RESUME	265
	ABSTRACT	265

Remerciements

Se lancer dans une thèse est un travail de longue haleine, au départ bordé d'écueils et de mirages, mais au final empli de repères et de richesses plus qu'éphémères. L'aventure ayant débuté avec un équipement usé et relativement douteux, elle s'est achevée avec des outils en acier trempé et des convictions redoutables. Une fois en cours, il est indéniable de constater que c'est avant tout un défi humain, parcouru de rencontres, parfois passagères mais pour la plupart durables et fidèles. C'est pour cette force que je remercierai tout particulièrement ces quelques compagnons qui m'ont permis de franchir quelques sommets hivernaux par la face nord, de traverser des jungles peuplées de cochons sauvages et de naviguer en eaux paisibles entre deux gros grains.

Je ne remercierai jamais assez Romain Richard pour ses nombreuses piques, pour son nationalisme et pour ses innombrables tricheries. Plus qu'un simple collègue, j'aurai fièrement joué à ses côtés à l'US Ramonville Football, et aurait gagné un ami robuste. Dorothee Colas, évidemment, pour les quelques (milliers de) bergamotes qu'elle m'aura offert et les histoires insolites qu'elle véhicule. Sa complicité et son amour du rêve auront été un atout pour ces années partagées. Louise Foan, qui m'aura inondé de sympathie autant qu'elle inondât le laboratoire de Ranguel. C'est dire si cette amitié restera solide. William Piang-Siong, le réunionnais à l'accent chantant du sud ouest, qui m'aura prouvé qu'un estomac n'a pas vraiment de limites et que le rhum est une bonne source de fruits. Je suis sûr que son cœur fleurira autant que son rire. Un grand merci à Guillaume Busset, pour ces heures de vélo depuis le rendez-vous du pont jusqu'au nouveau site de Labège, pour l'entente sportive sur les pelouses, les échanges amicaux et la candeur velue de ce futur père protecteur du petit Armand.

Un petit mot pour les « anciens » aussi, Julien Humbert et Guadalupe « Lupita » Vacamedina qui ont su m'accueillir sur le site de Ranguel, Emilie Pislor pour sa sportive simplicité et Olivier Pignolet, bien sûr, pour nos longs débats.

Il y aura toujours un petit mot pour les aventuriers de passage qui m'auront aidé pour de nombreuses transitions Matthieu Sangely et sa gourmandise terroir ainsi que sa merveilleuse générosité, mais également Chaker El Kalamouni pour son incroyable sympathie, Emeline Morales pour ses nombreuses bulles et Claire Suchet pour sa fraîcheur et

son rayonnement. Il ne faudrait pas oublier Tessa Castellan et Laurie Guérinet pour leur enthousiasme communicatif et leur large amicalité.

A tous les thésards qui ont su égayer mon quotidien, j'aimerais adresser tous mes vœux de réussite, dans leurs travaux évidemment, mais également dans toutes les petites entreprises dont nous avons pu discuter. Ainsi, je voudrais remercier ces compagnons de labeur, Nicoleta Oana Vladut, Alla Nesterenko, Anaïs Godard, Clément Celhay, Manon Bergez-Lacoste, Leslie Jacquemin, Bassam Nohra, Zaher Abdelbaki, Christian Ngakegni-Limbili, Elodie Chabrat, ce petit groupe avec qui j'aurai eu des moments particuliers, et puis les autres qui ont tout autant leur place dans ce panégyrique.

Je voudrais remercier mes encadrants de thèse, Christine Raynaud tout d'abord, pour sa patience et son implication dans la partie aromatique du projet, mais également sur l'ensemble du sujet. Ses conseils auront permis d'améliorer grandement la qualité du travail accompli. Un grand merci à Luc Rigal qui a toujours su tirer le projet et son contenu vers le haut grâce à une vision très complète de l'industrie et de la gestion d'une telle entreprise que peut représenter un travail de thèse. Merci à Gérard Vilarem également, qui a toujours su apporter son professionnalisme et son sérieux au cours des avancées de la thèse. Un sérieux ponctué de traits d'esprits qui n'auront pas manqué de renforcer la cohésion de l'équipe.

Je tenais à remercier les correcteurs qui ont bien accepté de juger mon travail, MM. Farid Chemat et Mohamed Ghoul, ainsi que les membres du jury, tout particulièrement Driss Elothmani pour avoir partagé cette passion de la valorisation et Alain Periquet.

Aux membres du laboratoire impliqués dans le projet, je voudrais également apporter toute ma reconnaissance. Anne Lung, pour tous les objets que je lui ai empruntés, sa jovialité et pour les longs instants de réactions au milieu d'un fumet de jambon sec. Cathy Doumeng, pour ses conseils pratiques concernant l'extrusion, pour avoir partagé des moments simplement humains avant de trouver le repos. Céline Mathieu pour les nombreuses analyses et les péripéties partagées sur les GAG. Et puis Géraldine Giacinti pour le temps qu'elle a su m'accorder sur les caractérisations, les analyses aromatiques, mais aussi sur les innombrables conversations hors cadre que nous avons eues. Une chaleur partagée également avec Ingrid Pelletier sur les compléments d'analyses. Merci à vous.

Bien entendu, ce travail n'aurait pas eu cette importance sans le soutien, même depuis l'Espagne ou l'Italie, d'Eric Villain, toujours preneur d'idées innovantes et d'une aide remarquable par son implication. Le support technique de Michel Borel, sa considération pour le projet et son expérience charcutière auront fait honneur à l'ENILV de La Roche Sur Foron. Je voudrais remercier également le groupe Aoste dans son ensemble pour m'avoir accueilli et pour avoir cru dans le projet, avec des pensées plus particulières pour Stéphane Viguié, Emmanuel Proust, Sarah Vayer, Stéphanie Genevois, Stéphane Zimmer, Sonia Rousseaux et Anne De La Torre.

Je voulais remercier également les cinq baroudeuses qui m'ont épaulé pendant ces quelques années, appelez-les stagiaires si ça vous chante, mais en tout cas je ne pourrai pas oublier les prestations de Marie-Cécile Brun, Fanny Saumade sur le lourd projet GAG, avec le complément de la souriante Justine Olijnyk. Merci également à Camille Genies pour la partie aromatique, mais également pour l'incroyable dynamisme et la douceur apportés au projet, et Anne-Lise Auger pour son abnégation et cette charmante envie de repousser les frontières du marketing vers son eldorado sud-américain. Travailler avec vous fut un honneur.

La vie au laboratoire n'aurait pas eu cette saveur sans la présence des ingénieurs et des techniciens qui recevront toute ma considération, mais aussi aux blouses blanches de tout poil. J'aimerai dans ce sens remercier Antoine Rouilly et Philippe Evon pour leur apport technique et amical, mais également Michael Charton, ce modèle d'endurance, Candice Gineste, Jean-François Favre, Florent Breton, Muriel Cerny, Didier Dangla, Marion Alignan, Virginie Vandebossche, Laure Candy et Emmanuelle Dao. Un grand merci au soutien technique extérieur, Elodie Gaulin pour son expertise en champignons, mais aussi Eric Benoist, qui fut un parrain de thèse attentif et réactif. Merci aussi à M.Com, Thierry Talou et son analyse footballistique plus que chauvine, et aussi pour sa dynamique et sa générosité presque sans limites. J'entends remercier également Jérôme Peydecastaing pour sa bonhomie et Eric Lacroux, pour son analyse artistique et son dégoût des thésards.

Parmi le millier de stagiaires que je n'ai pas eu à encadrer, j'aimerai remercier les plus téméraires d'entre eux. Ils sont nombreux, de tous horizons et probablement dispersés dans le monde entier. Et ce n'est nullement une raison pour les oublier.

Je voudrais me tourner vers tous mes amis dotés d'une âme si chaleureuse qu'ils m'ont permis de toujours avancer dans la bonne humeur. Parmi les rhônalpiens, je voudrais tout particulièrement remercier Arnaud Eichenlaub, toujours présent, même virtuellement. J'ai eu grand besoin de sa force montagnarde. Les anciens du DUT génie bio de Bourg-en-Bresse, je suis si fier de vous avoir comme amis réguliers. Je voudrais remercier Florence Santailler, qui ne s'est jamais décidée à m'abandonner.

Ne pas remercier les anciens du master PIN'S d'Angers serait une grave erreur. Ainsi, je voudrais sincèrement remercier Romain David et Nicolas Paugam, de véritables frères qui me feront vraisemblablement toujours grignoter de la route par les joies du covoiturage.

Je n'oublie pas non plus mes soutiens virtuels, l'ensemble de la communauté Ter Aelis, cette chapelle des arts imaginés qui m'aura aidé à bâtir Airet Syl, mais aussi Lucille Teppa qui a toujours eu cette oreille dansante. Merci aussi à la grande équipe 3 de l'US Ramonville football, l'incroyable coach, Jacques Panicalli et le glorieux capitaine Guillaume Cacout. Je voudrais aussi remercier le hasard des rencontres toulousaines, tout particulièrement Pauline « Poudine » Papaïs la Super Pâtissière, sa plus gourmande représentante.

J'aimerais me tourner en dernier lieu vers ma famille, qui m'a toujours soutenu, et ce malgré la distance et le peu d'instantants que nous avons partagé ces quatre dernières années. Mon père et puis ma mère, qui doivent sûrement sourire en lisant ceci. Ma sœur Clémentine aussi, et puis mes cousins, Tanguy et Raphaël Richard, ainsi que Julia Matras, Frédéric Furtak pour m'avoir encouragé de loin.

Outre l'aspect polyvalent et scientifique de la thèse, ces quatre ans m'auront également permis de fouiner dans d'autres domaines et de tester un nombre incroyable de compétences. Ainsi, j'aurai pu terminer d'écrire mon Epopée Céleste et débuté Cendres, que je ne manquerai pas de boucler. J'aurai pu me découvrir des talents d'artiste avec cette passion dévorante pour la peinture digitale. J'aurai été me mesurer à des monstres de culture générale, jusqu'à les terrasser, j'aurai découvert les joies du triathlon. Après avoir écumé le complexe labyrinthique du LCA, c'est avec grand plaisir que je rends ma casquette de Super Doctorant. Pourvu que l'esprit subsiste des siècles et des siècles.



Giant Steampunk Dry-Cured Ham

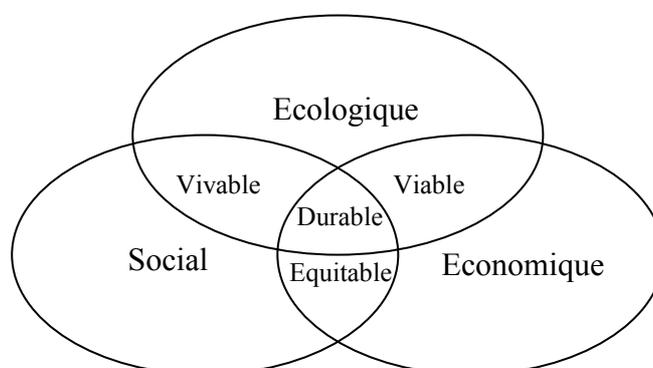
Illustration numérique

Travail personnel

*Où l'on voit chacun des écueils et des engrenages d'une telle entreprise,
avec toujours une ouverture d'où filtre la lumière.*

Introduction

Longtemps associé à la notion de progrès, à l'évolution de l'humanité, de la civilisation vers un terme idéal dont elle se rapprocherait indéfiniment, le développement ne s'applique plus qu'au seul esprit, aux progrès de la connaissance et de la science, mais se voit aujourd'hui confronté à des réalités comme l'épuisement des ressources, l'accroissement de la population humaine et l'impact environnemental de ses activités. C'est pourquoi l'adjectif durable (stable, viable) ou soutenable (défendable, supportable) est maintenant systématiquement associé au développement, traduisant le fait qu'il doit se situer à la convergence des approches économiques, écologiques et sociales (Adams, 2006).



Si cette évolution vers un développement durable a manifestement concerné en premier lieu le secteur de l'énergie, avec la promotion des énergies renouvelables et l'agriculture, avec la préservation des sols et des eaux, ainsi que la réduction des intrants, puis l'industrie chimique et des matériaux, avec la réduction des rejets et le développement du recyclage, l'industrie agroalimentaire est de plus en plus concernée, car elle est, avec l'industrie de transformation du bois, l'une des principales filières d'exploitation de ressources renouvelables.

Construite et intensifiée pour répondre aux besoins de la consommation humaine, l'industrie agroalimentaire génère aussi des co-produits, souvent valorisés en alimentation animale et des sous-produits dont le retraitement devient de plus en plus contraignant. L'industrie de la transformation des viandes en est un exemple typique. Les sous-produits que constituent les issues de l'abattage des animaux et de la découpe des carcasses étaient principalement transformés par des usines agréées en farines et graisses animales destinées à l'alimentation des animaux d'élevage. Mais l'épizootie d'Encéphalopathie Spongiforme

Bovine (ESB) en Europe a compromis ce débouché dans les années 90, et jusqu'à maintenant, l'utilisation de farines animales dans l'alimentation des animaux d'élevage est interdite en France. Ce qui a contribué à l'effondrement des cours de ces sous-produits, en particulier dans la filière de la production charcutière : les os et issues de la découpe des carcasses de porcs et des jambons, de co-produits alimentaires, sont devenus des sous-produits à risque, dont le retraitement est impératif, pour tout développement de l'activité charcutière, mais commence à représenter aujourd'hui un coût.

C'est dans ce contexte que la société AOSTE a confié au Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle et au CATAR (CRITT Agroressource) qui lui est associé, une étude sur la recherche de nouvelles valorisations de ces co-produits.

La démarche scientifique des travaux présentés dans ce mémoire de thèse est celle déjà développée pour la raffinerie du végétal à travers le fractionnement des agro-ressources. Elle s'articule en trois étapes d'acquisition de connaissances sur les matières premières, les procédés de fractionnement et les produits extraits et raffinés issus de ces procédés.

Après avoir resitué l'industrie des produits carnés et plus spécifiquement des productions charcutières dans son contexte mondial et français, nous décrirons dans le premier chapitre les principales voies de valorisation des co-produits de ces industries. Puis nous détaillerons l'état des connaissances bibliographiques sur les constituants de ces co-produits.

Le second chapitre sera consacré à la caractérisation expérimentale de la matière première choisie pour notre étude : le co-produit issu du désossage de jambon sec. La répartition des principaux constituants lipidiques, protéiques et minéraux et leur composition chimique seront détaillées, ainsi que celle de composés minoritaires tels que les composés volatils aromatiques et les glycosaminoglycanes (GAG).

Le troisième chapitre développera l'étude du fractionnement des co-produits de jambon sec à travers la définition d'un procédé d'extraction aqueux et de séparation des fractions adaptée à cette matière première. L'étude de l'influence des principaux facteurs sera menée grâce à la réalisation d'un plan d'expériences, à partir duquel les orientations possibles pour l'optimisation de l'obtention des différents extraits et raffinés seront définies.

La mise en œuvre du procédé de fractionnement aqueux à l'échelle pilote nous permettra de produire deux extraits, lipidiques et protéiques, et un raffiné solide, et la caractérisation de leurs propriétés chimiques et physicochimiques fera l'objet du dernier chapitre. Les propriétés fonctionnelles de chacune des fractions y seront évaluées dans la perspective de leur valorisation par des applications spécifiques.

1. Les co-produits de l'industrie de charcuterie de porc : production, valorisation et composition

Tout comme les filières de production agricoles végétales et leur transformation pour l'alimentation humaine et animale, les filières de production animale ont suivi, pour répondre à la demande de ces quarante dernières années, une forte évolution d'intensification de la production et de rationalisation de la transformation à travers une concentration des moyens industriels et l'internationalisation des flux commerciaux. Au sein de la filière des produits carnés, l'industrie de la production de charcuterie de porc en est un exemple typique dont nous situerons l'importance à travers quelques données économiques.

Construites sur la valeur ajoutée apportée par les produits carnés pour l'alimentation humaine, ces filières de transformations animales reposent sur un schéma de fractionnement qui génère des flux importants de co-produits et de sous-produits (Figure 1- 1).

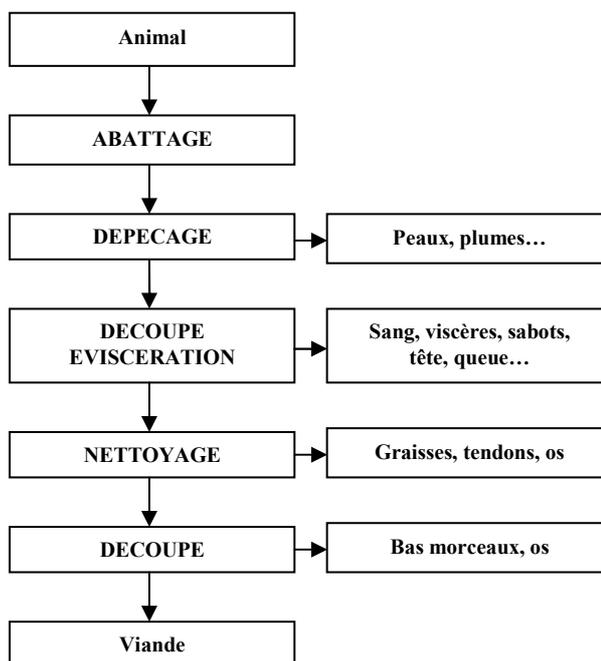


Figure 1- 1 : Schéma général de la transformation des produits carnés

Face aux contraintes d'impact environnemental et de sécurité pour la santé humaine liées à une concentration et une accumulation de ces flux de matières hautement périssables, et au-delà des utilisations traditionnelles, il a été nécessaire de développer des filières de

valorisation et leurs marchés correspondants. Nous décrivons les principales d'entre elles et les procédés mis en œuvre, ainsi que les différentes pistes de valorisation évoquées dans la bibliographie.

Durement frappée par la crise de l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB), l'identification du prion comme agent pathogène, et la suspicion de son implication dans le développement de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ) chez l'homme, la filière de production de farines animales a été remise en cause dans les années 1990, avec la mise en place d'une réglementation drastique sur leurs utilisations, encore en vigueur aujourd'hui. C'est dans ce contexte que s'inscrivent nos recherches de nouvelles voies de valorisation des co-produits de fabrication du jambon de porc, à l'initiative de la société Aoste. Ces co-produits sont issus de l'opération de découpe d'un produit à destination alimentaire (Figure 1-2) :

a) Dans le cas de fabrication de jambon cuit, les co-produits apparaissent lors de l'étape de découpe et de parage, c'est-à-dire l'enlèvement des parties non désirées ou non comestibles. Le jambon, avant traitement technologique, est appelé DD s'il est Découenné et Dégraissé, DDD s'il est en plus Désossé et 4D s'il est en plus Dénervé. Il subit ensuite une injection de saumure, puis un malaxage en baratte qui permet d'assurer une meilleure répartition de la saumure et d'assouplir les muscles. Le moulage consiste à mettre en forme le jambon dans un moule prévu à cet effet, avant cuisson, à l'eau ou à la vapeur. La cuisson s'effectue à température constante (+70 °C), croissante ou par paliers, avant que le produit soit refroidi et mené au conditionnement (Frentz et al., 1990).

b) Le jambon sec est obtenu via un procédé particulier. Après parage, l'épaule ou le jambon frais subit une alternance de massages et de temps de repos durant 3 semaines, c'est l'étape de frottage. Après avoir enlevé le sel et suspendu les jambons à des barres en fer viennent les étapes de maturation, d'étuvage et de séchage. Les parties charnues du jambon sont ensuite recouvertes de graisse pour permettre un séchage plus doux et un affinage plus homogène, il s'agit de l'étape de pannage, avant la longue période d'affinage,. L'étape de désosse qui génère les co-produits les plus volumineux a lieu juste avant un tranchage éventuel et le conditionnement.

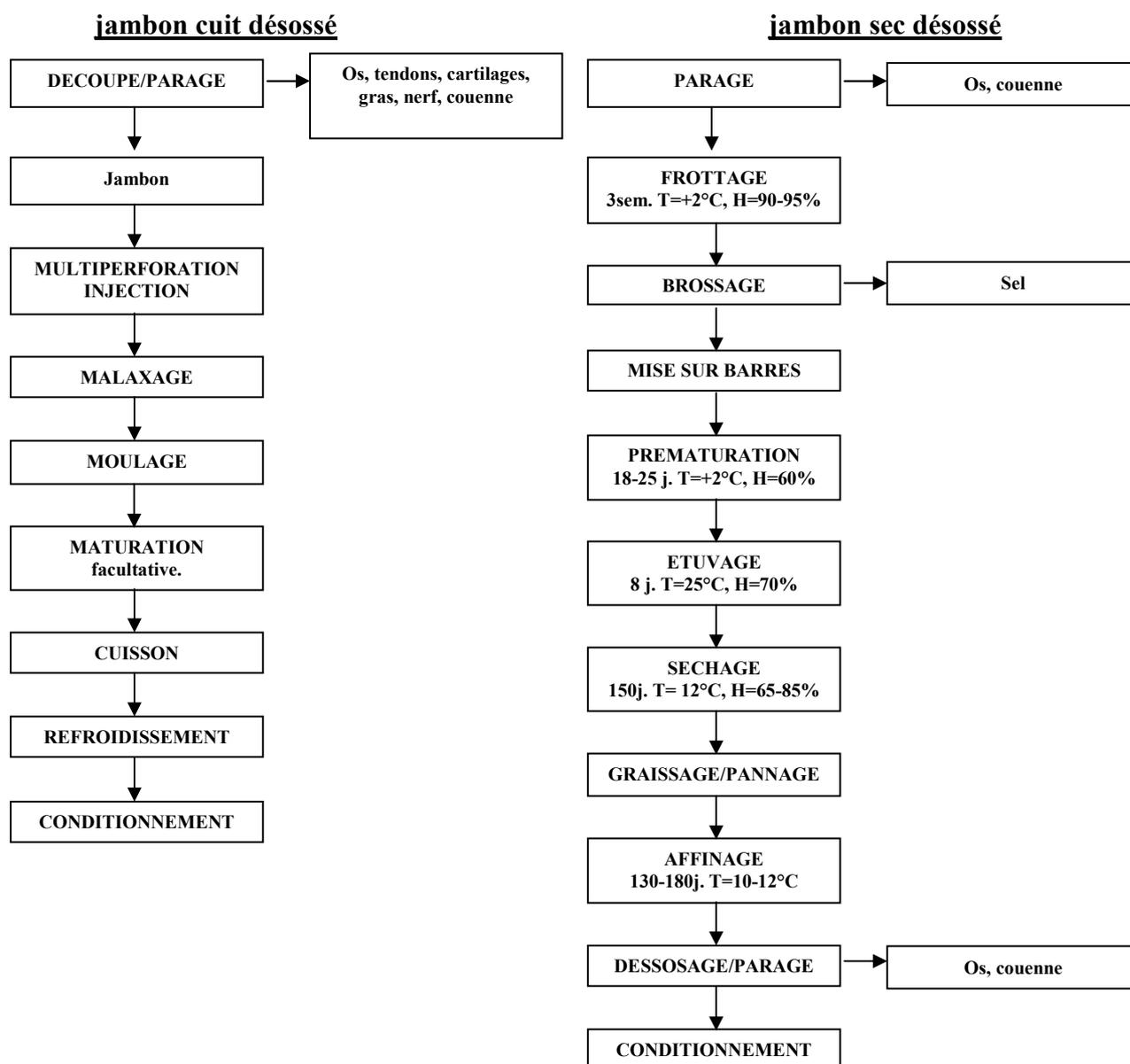


Figure 1- 2 : Schéma de transformation actuel pour la production de jambon cuit et sec (Frentz et al., 1990)

Nous décrivons l'état des connaissances sur les différents constituants de ces co-produits, susceptibles de devenir les bio-produits cibles d'un procédé de fractionnement.

1.1. L'industrie des produits carnés

Ces trente dernières années ont vu la demande en produits carnés augmenter et la productivité a dû s'adapter pour y répondre. L'intensification de la production a concerné

toute la filière viande, avec non seulement la transformation de porcins, mais également celle de volailles, d'ovins et de bovins.

1.1.1. Production de viande

1.1.1.1. Le marché mondial

L'aperçu général des marchés de la viande (Abbassian, 2010) permet d'observer une augmentation prévisionnelle de la production de viande et des échanges mondiaux des produits carnés (Tableau 1- 1).

Bilan mondial (milliers de t de viande)	2008	2009 (estimation)	2010 (prévision)	Variation 2010/2009 (%)
PRODUCTION	279 290	281 482	286 444	1,8
Viande bovine	65 419	64 675	64 874	0,3
Volaille	91 819	92 325	94 819	2,7
Viande porcine	103 634	105 995	108 135	2,0
Viande ovine	12 972	12 985	13 054	0,5
COMMERCE	25 936	25 268	25 374	0,4
Viande bovine	7 366	7 259	7 281	0,3
Volaille	11 130	11 149	11 041	-1,0
Viande porcine	6 306	5 755	5 947	3,3
Viande ovine	867	832	830	-0,2

Tableau 1- 1 : Aperçu général des marchés mondiaux de la viande

La viande porcine est actuellement la plus produite, avec une augmentation prévisionnelle de 2 %, derrière celle de la volaille (+2,7 %). Concernant le commerce international, la viande porcine est moins représentée que la viande bovine ou la volaille, mais la variation du commerce prévisionnel est la plus importante (+3,3 %). On constate également des régressions pour le commerce de la volaille ou celui de la viande ovine, bien que globalement, la production et le commerce des produits carnés augmentent.

1.1.1.2. Le marché français

Bien que la France demeure le premier pays producteur de viande bovine en Europe (Agreste, 2010) (Tableau 1- 2)., la baisse de consommation de viande affecte toutes les productions.

	1980	1990	2000	2008
Gros bovins	1560	1599	1462	1442
Veaux	405	313	307	276
Porcins	1570	1727	2311	2319
Ovins-Caprins	180	177	138	117
Equidés	19	10	12	6
Volailles	1125	1657	2248	1851

Tableau 1- 2 : Production de viande (en milliers de tonnes équivalent carcasse)

1.1.2. La production de charcuterie de porc

Installé dans notre culture depuis plus de quatre mille ans, le porc est l'animal le plus consommé au monde (Raloff, 2003). La quasi-totalité de la carcasse est utilisée, depuis l'artisanat jusqu'à l'industrie à très grande échelle. L'industrie de la charcuterie et de la salaison ont vu se développer de nouvelles technologies afin d'augmenter les rendements et les quantités produites, depuis l'élevage jusqu'au produit fini.

1.1.2.1. Le marché mondial

Les tendances du secteur montrent que la viande transformée de porc progresse en raison d'une production porcine plus intense et de l'augmentation de la consommation de produits à base de viande dans le monde. Globalement, le marché est dominé par des entreprises multinationales (Tableau 1- 3) qui possèdent des unités de production locales (Ubifrance, 2009).

Entreprises	Pays d'unités de productions
Campofrio Foodgroup	Etats-Unis, Mexique, France, Espagne, Belgique, Pays-Bas, Roumanie...
Nippon Meat Packers Inc.	Japon, Chine, Australie, Taïwan, Thaïlande, Etats-unis
Danish Crown	Danemark, Etats-Unis, Royaume-Uni
Nestlé	Tous pays

Tableau 1- 3 : Les principales entreprises mondiales de la charcuterie (année 2008)

Alors que les tendances à l'importation des produits charcutiers augmentaient jusqu'en 2008, l'année 2009 a vu une baisse de ces valeurs liée aux renforcements des contrôles sanitaires à l'importation. De plus, les habitudes de consommation très spécifiques à chaque pays ne favorisent pas les échanges de produits transformés. Les principaux

importateurs et exportateurs sont les pays d'Europe de l'ouest (Tableau 1- 4). L'occidentalisation des habitudes de consommation et l'augmentation du niveau de vie dans les pays asiatiques tendent à favoriser les exportations.

Pays Importateurs	Part de marché (%)
Royaume-Uni	24
Allemagne	10
France	9
Japon	8
Belgique	5

Pays Exportateurs	Part de marché (%)
Allemagne	17
Italie	12
Danemark	9
Pays-Bas	8
Espagne	7

Tableau 1- 4 : Principaux pays importateurs et exportateurs de produits transformés de porc

1.1.2.2. *Le marché français*

Bien que le consommateur français reste amateur de charcuterie, les études récentes montrent clairement que le chiffre d'affaires des entreprises charcutières est en baisse (Tableau 1- 5). Cette baisse est expliquée notamment par la baisse du coût du porc.

	2007	2008	2009	2010
Chiffre d'affaires (millions d'€)	7 053	7 184	6 614	6 124
Production (millions d'€)	1 365	1 365	1 367	1 211
Nombre d'entreprises	349	343	340	303
Nombre de salariés	36 845	37 488	37 561	34 887
Exportations (millions d'€)	348	349	310	319
Importations (millions d'€)	485	557	535	537

Tableau 1- 5 : Activité du secteur charcutier en France

En 2009, le volume de production a stagné et le niveau d'emploi s'est maintenu par rapport à l'année 2008, tandis qu'une tendance à la baisse apparaît en 2010. Il est intéressant

de constater que les exportations et importations ont nettement diminué en 2009 et 2010 par rapport aux années précédentes.

Cette même année 2010, la Fédération des Industriels Charcutiers Traiteurs (FICT) recensait 303 entreprises, 58 % de la production étant assurée par 33 entreprises qui produisent plus de 10 000 tonnes par an (Figure 1- 3).

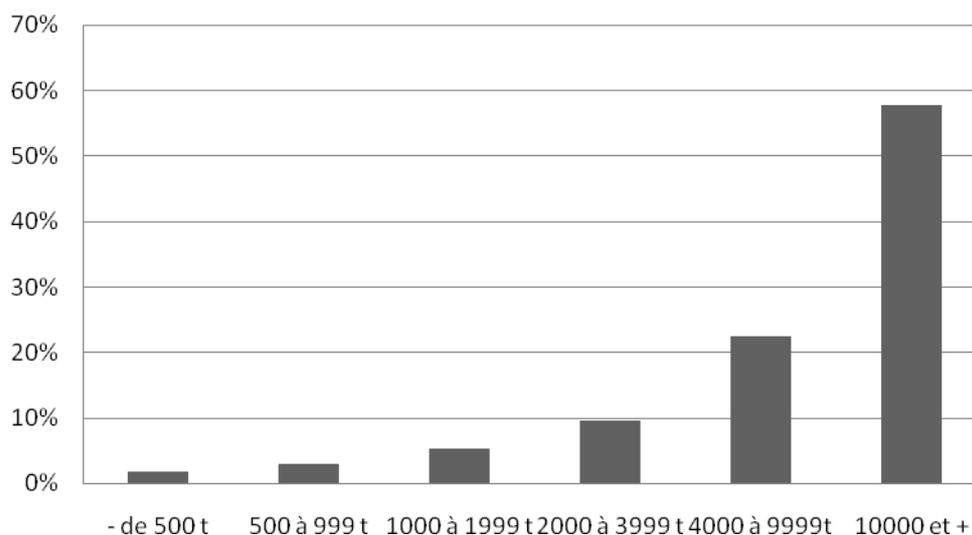


Figure 1- 3 : Répartition de la production par volumes d'entreprises (%)

La charcuterie porcine regroupe une large gamme de produits répartis entre charcuteries et salaisons, les produits traiteurs et les conserves de viande. La production par famille de produits (Figure 1- 4), montre que le jambon cuit ainsi que les saucisses cuites ou à cuire représentent les secteurs les plus productifs.

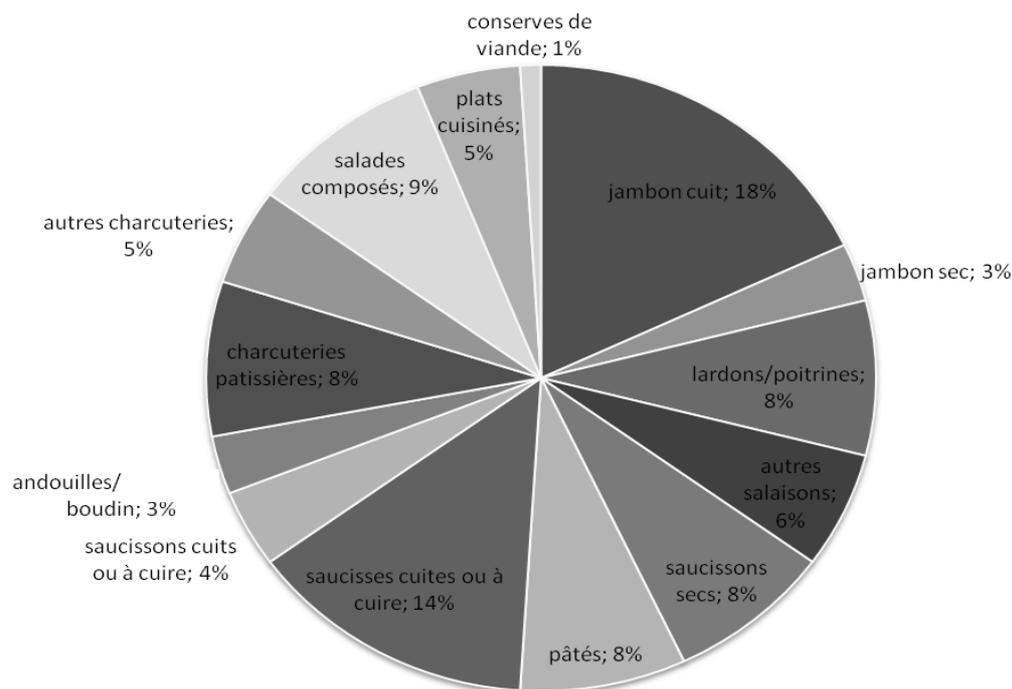


Figure 1- 4 : Répartition de la production par famille de produits (FICT, 2011)

Ces familles de produits n'ont pas la même évolution dans le temps. Par exemple, de l'année 2008 à l'année 2009, la charcuterie à base de volaille progresse en volume, tandis que des produits comme le pâté, le boudin ou les andouillettes chutent légèrement. De l'année 2009 à l'année 2010, la charcuterie à base de volaille confirme l'augmentation en volume, tandis que le saucisson sec, les rillettes et les pâtés chutent. Une comparaison sur une plus longue durée (5 ans) permet de confirmer certaines tendances, notamment sur les charcuteries à base de volaille ou les rillettes (Tableau 1- 6).

	%2010/2009	%2009/2008	%2009/2005
Charcuterie à base de volaille	+17,7	+9,5	+14,2
Jambon sec	+1,1	+4,2	+8,0
Saucisse à gros hachage	+2,0	+3,7	0,0
Lardons/poitrines/bacon	+0,1	+2,8	+4,3
Jambon cuit	+2,9	+2,5	+6,2
Saucisson sec et salami	-1,6	+2,5	+2,7
Rillettes	-1,5	+1,5	+14,1
Saucisson cuit ou à cuire	+2,7	+1,0	-7,1
Saucisse à pâte fine	+2,4	+0,4	+9,3
Pâtés	-3,1	-1,5	-7,5
Boudin	+3,8	-1,1	-1,0
Andouille/andouillette	+1,7	-0,9	-0,9

Tableau 1- 6 : Evolution des différents marchés de produits charcutiers, en volume

Globalement, le volume de production se stabilise, mais le consommateur français reste un grand amateur de produits charcutiers, grâce notamment à des rapports qualité/prix attractifs et un savoir-faire reconnu (FICT, 2011).

1.1.3. Les co-produits de l'industrie des produits carnés

Un déchet correspond au résidu d'une matière dont le producteur cherche à se débarrasser ou à éliminer. Dans le cas d'un déchet issu de l'élevage ou de l'industrie agro-alimentaire, c'est un produit résiduel de la chaîne de fabrication dont les caractéristiques ne correspondent pas à la législation en vigueur concernant l'alimentation du bétail, et par conséquent ne peuvent pas entrer directement dans la chaîne d'alimentation des animaux d'élevage. Après traitement, les déchets peuvent devenir des sous produits utilisables en alimentation animale.

Les sous-produits sont également des résidus qui apparaissent lors de la fabrication d'un produit fini, parfois de manière accidentelle. Les sous-produits peuvent constituer un ingrédient d'un autre procédé de fabrication, ou être retraités.

La qualification de co-produit sous-entend qu'il est obtenu de manière intentionnelle et inévitable lors de la fabrication d'un produit principal, à partir d'une matière première définie, et que tous les produits finis obtenus doivent alors répondre à des spécifications et être utilisés pour un usage particulier.

Historiquement, l'utilisation des co-produits de la filière animale est connue depuis la préhistoire, avec la confection de vêtements à partir de peaux d'animaux, la fabrication d'outils à partir des os, l'emploi du fumier sec comme combustible ou de co-produits de poisson comme fertilisant. Plus tard, on retrouve l'utilisation des co-produits dans les textes de Pline l'Ancien qui décrit la fabrication de savon à partir de gras de chèvre et de cendres de bois (Pline l'Ancien, Ier siècle).

Ockermann mentionne l'apparition des premiers équarrisseurs pour le traitement des déchets animaux aux Etats-Unis aux alentours de 1800 (Ockerman et al., 1988).

Une liste non exhaustive des co-produits de la viande, dressée par l'American Meat Institute, en 1958, fait état de plusieurs utilisations traditionnelles et industrielles des extraits de la carcasse animale (Tableau 1- 7).

Co-produit	Utilisation
Assortiment comestible	Organes comestibles pour la consommation humaine
Gras comestibles	Margarine, confiseries, chewing-gum
Os	Soupe pour l'alimentation humaine Boutons, manches de couteaux, farine d'os, mélange à l'argile de poterie, utilisation dans le raffinage du sucre
Sang	Consommation humaine, farine de sang, adhésif, fertilisant
Glycérine	Fabrication de nitroglycérine, solvant, médecine, conservateur pour aliments, plastifiant
Intestins	Boyau de saucisses, cordes d'instruments de musique, fil chirurgical
Gélatine	Crèmes glacées, produits alimentaires gélifiés
Chymosine (rennine)	Fabrication du fromage
Produits Pharmaceutiques	Albumine, insuline, pepsine, testostérone...
Organes	Implantation humaine (valves cardiaques, peau, os, cœur)
Carcasse	Nourriture pour bétail (riche en protéines, graisses et minéraux). Nourriture pour animaux de compagnie et pisciculture Fertilisant pour sols
Peaux	Fourrure, cuir, produits en cuir.
Gras non comestibles	Lubrifiants, insecticides, germicides
Poil	Brosses
Plumes	Oreillers, équipement sportif, nourriture pour animaux.
Collagène	Obtention de colle pour une utilisation en charpenterie
Huile de pied de boeuf	Industrie du cuir, lubrifiant
Fumier	Fertilisant, nourriture pour animaux ou production de méthane

Tableau 1- 7 : Utilisation des co-produits animaux (American Meat Institute Committee, 1958)

Les gisements de co-produits animaux déclarés sains à la consommation humaine représentent 1,9 millions de tonnes en 2009 (SIFCO, 2010), provenant de plusieurs familles d'animaux (Tableau 1- 8).

Origine	Quantité (milliers de t)
Volailles	753
Ruminants	717
Porcins	409
Poissons	65

Tableau 1- 8 : Quantités de co-produits d'origine animale collectés et traités en 2009

Les co-produits, souvent nommés « cinquième quartier », peuvent ainsi avoir différentes destinations, en fonction de leur caractère comestible ou non comestible (Figure 1- 5).

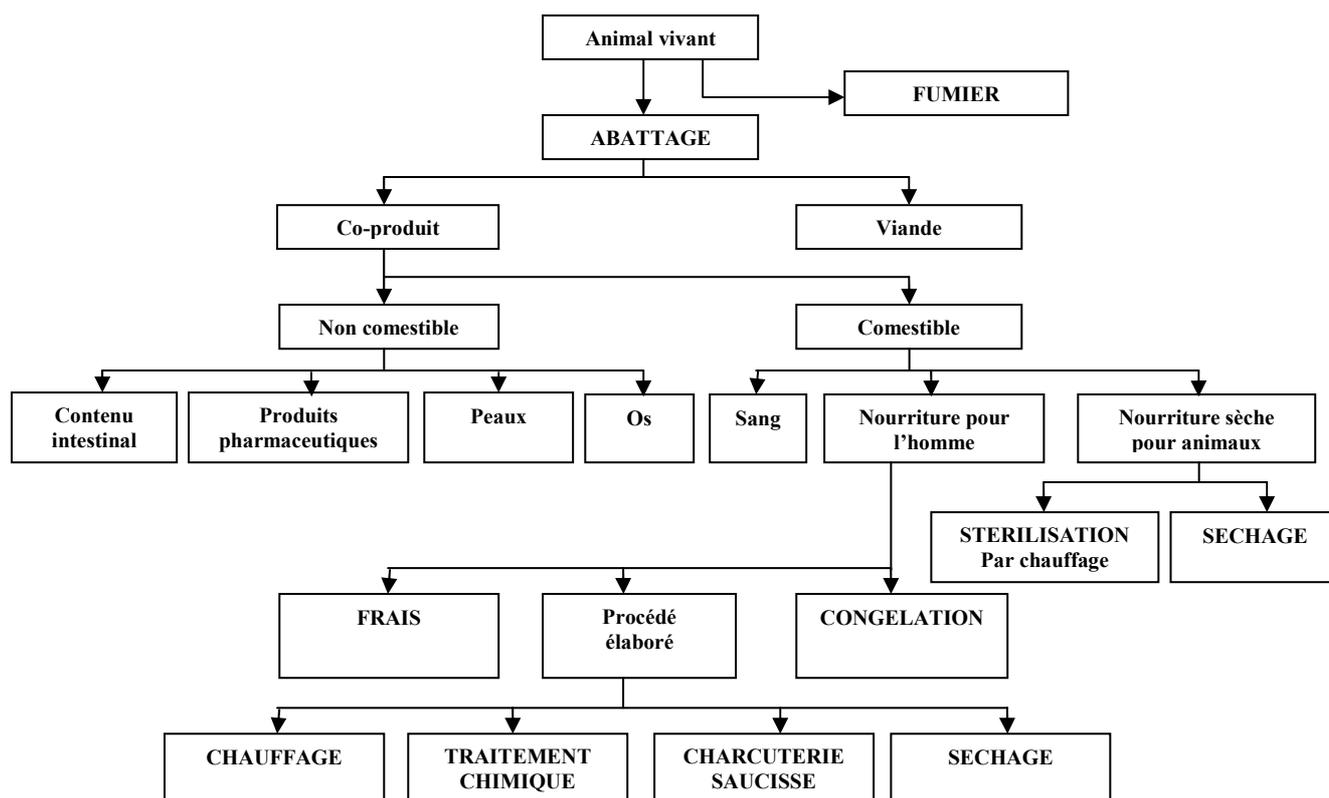


Figure 1- 5 : Diagramme des flux majoritaires de co-produits de la filière animale (Ockerman et al., 1988)

La quantité de co-produits générés par les transformations industrielles varie en fonction de l'espèce, du sexe et du régime alimentaire de l'animal concerné (Ockerman et al., 2004). Leurs utilisations varient en fonction des régions, des religions et des goûts des populations. Il est alors important de distinguer :

- Les co-produits comestibles : ils représentent de 10 % à 30 % du poids de l'animal vivant chez le bœuf, le porc et le mouton, 5 % à 6 % chez le poulet. Les viscères rouges (foie, cœur, rein, langue) et les viscères blancs (intestins et estomac) sont considérés comme comestibles, mais leurs utilisations pour l'alimentation humaine ont fortement diminué.
- Les co-produits non-comestibles : ils représentent jusqu'à 50 % du bétail vivant et 40 % chez le porc. Les cuirs, peaux, plumes, sabots, cornes, pieds, têtes, os, sang, organes, glandes, intestins, tissus gras et musculaires issus d'animaux malades et coquilles d'œufs sont considérés comme non-comestibles (Pearl et al., 2004).

Toutefois, autour des années 1960, pour répondre à la demande d'intensification de la production animale (Fraser, 2006) et dans la perspective d'une meilleure valorisation

industrielle des co-produits, la filière de production de farine animale à partir des deux types de co-produits s'est fortement développée.

1.1.4. La production de farines animales

1.1.4.1. Intérêt des farines animales

Bien que la France dispose d'importantes réserves céréalières, il en va différemment pour les matières dites riches en protéine. Ces quinze dernières années, le renforcement de la production de protéagineux et d'oléagineux n'a pas permis de combler ce déficit. Au niveau européen, les besoins en matières riches en protéines pour l'élevage ont augmenté (volailles, bovins, porcins et poissons). Bien que le tourteau de soja (de 44 à 49 % de protéines) et les farines de poissons (65 à 72 % de protéines) soient disponibles, leurs coûts élevés ont favorisé l'utilisation des farines animales (50 à 60 % de protéines), au détriment des tourteaux de colza et de tournesol qui ont des niveaux de protéines plus faibles (Coulon et al., 1996).

Un avantage supplémentaire de ces farines animales serait de contenir des protéines plus adaptées que celles des aliments plus classiquement employés. En effet, la dégradation de ces protéines par les micro-organismes du rumen des ruminants permet une meilleure digestion et un apport complémentaire d'acides aminés, en lysine et méthionine (Petitjean, 1996). Toutefois, l'utilisation des farines de viande et d'os pour l'alimentation des ruminants a été limitée en France, essentiellement destinée aux vaches laitières du fait de son intérêt nutritionnel (Deriot et al., 2001).

Les farines de viande osseuse constituent également une bonne source de minéraux, plus particulièrement en calcium, azote et phosphore (Campo et al., 1967; Garcia et al., 2008; Hwang et al., 2007). Cependant cette teneur élevée en matières minérales peut aussi être un frein car elle diminue la densité énergétique de l'aliment. De plus, l'apport excessif de minéraux par ces farines surpasse certains besoins, en calcium notamment, chez les volailles en croissance (Larbier et al., 1992).

L'intérêt des farines de viande osseuse apparaît davantage économique, puisqu'elles représentent une source de protéines et de minéraux moins coûteuse (Deriot et al., 2001). Cependant, la crise dite de la vache folle survenue à partir des années 1990 a fortement perturbé le marché des farines animales (Figure 1- 6), puisque l'interdiction de leur emploi en 2001 a seulement permis aux farines de poissons de subsister (Figure 1- 7).

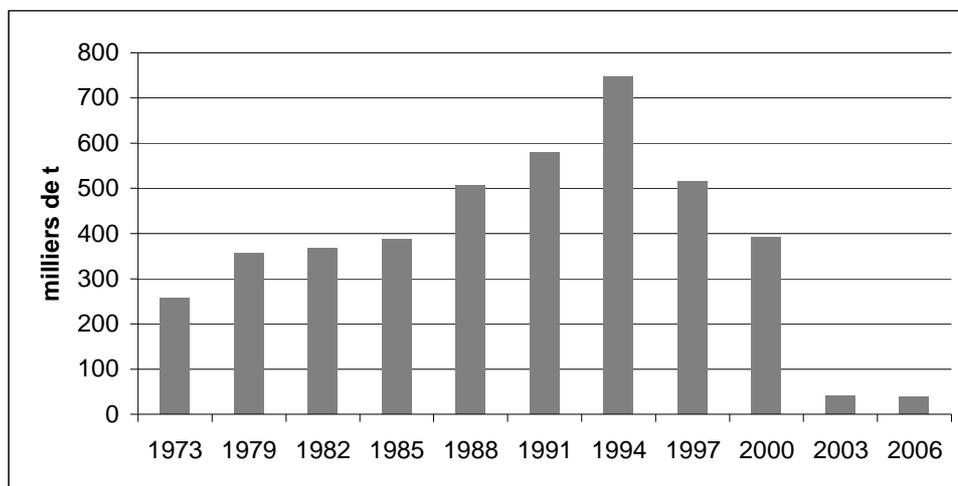


Figure 1- 6 : Farines animales utilisées pour la fabrication d'aliments composés de 1973 à 2006 (Agreste, 2006)

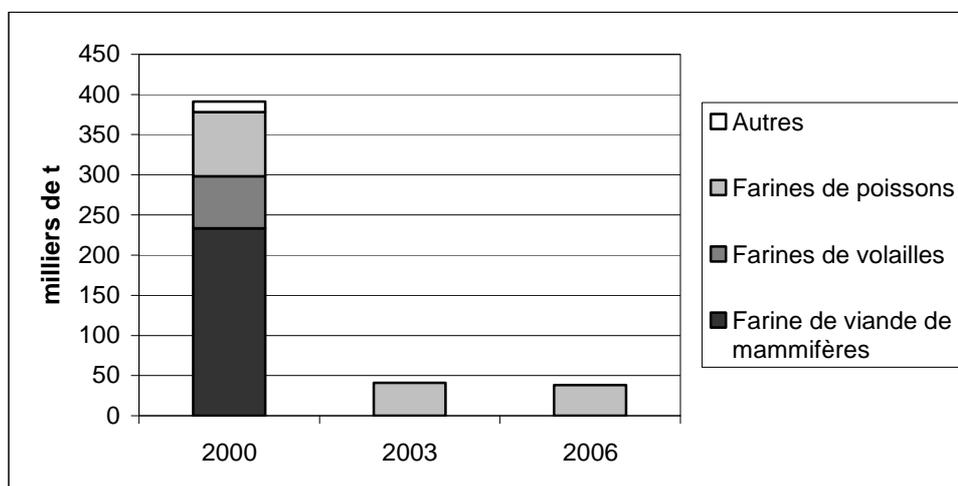


Figure 1- 7 : Farines d'origine animale utilisées pour la fabrication d'aliments composés de 2000 à 2006

1.1.4.2. La crise de l'Encéphalopathie Spongiforme Bovine (ESB)

Pour replacer la crise dans un contexte historique, c'est en 1973 avec l'embargo américain sur le soja, que l'Europe a cherché à s'émanciper de la dépendance des Etats-unis en matière de substances riches en protéines. La production des farines animales était alors considérée comme la voie de recours principale (SIFCO, 2010).

Au milieu des années 1980, des farines animales provenant d'ovins atteints de la tremblante du mouton, chauffées à une température inférieure à celle préconisée pour éviter toute prolifération de germes pathogènes, ont été mélangées à des aliments destinés à des vaches laitières. Bien que l'origine de l'apparition de la maladie soit discutée (Deriot et al., 2001), et que d'autres hypothèses existent, comme une pollution chimique, ou l'importation

d'espèces exotiques destinées à l'alimentation (notamment des antilopes), le vecteur de diffusion a été identifié. En effet, le prion, un agent pathogène dépourvu d'acide nucléique, est retrouvé dans les farines animales (Doherr, 2003; Petitjean, 1996). Le prion affecte le système nerveux central (cerveau, moelle épinière), et la consommation d'une farine contaminée par une autre espèce a permis le développement de la maladie d'Encéphalopathie Spongiforme Bovine.

La comparaison du nombre de cas d'ESB signalés en France (Figure 1- 8) et au Royaume-Uni (Figure 1- 9), montre d'une part qu'il y a une réelle disproportion dans les chiffres, avec un rapport supérieur à 100 du nombre de cas signalés outre-manche à l'apogée de la maladie et d'autre part, que le pic de cas signalés est décalé d'une dizaine d'années (OIE).

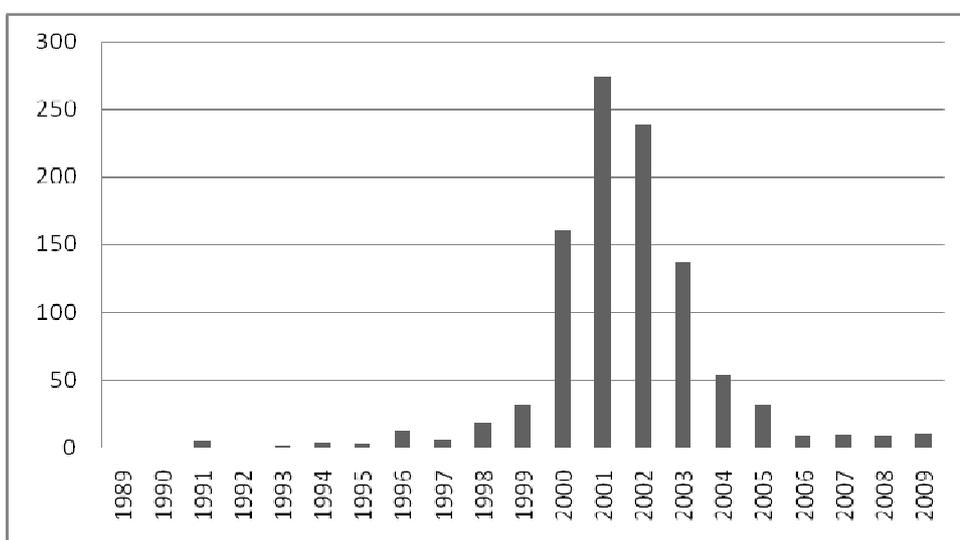


Figure 1- 8 : Nombre de cas d'ESB signalés en France

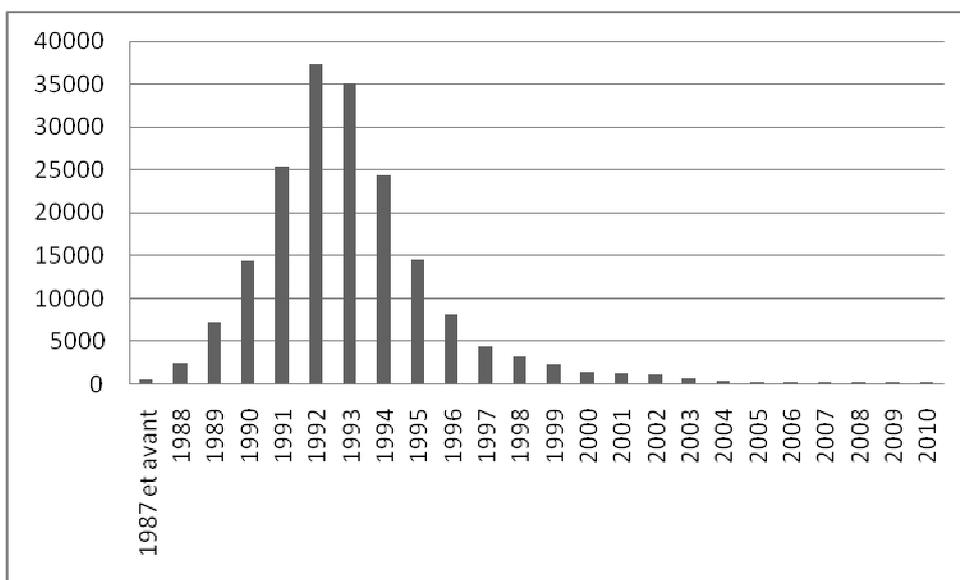


Figure 1- 9 : Nombre de cas d'ESB signalés au Royaume-Uni

Ainsi la filière française d'élevage incorporait de faibles proportions de farine, moins de 5 %, mais il n'en a pas été de même pour les britanniques, qui en incorporaient jusqu'à 10 % (Boloh, 2004).

En se référant au rapport de commission d'enquête sur les conditions d'utilisation des farines animales dans l'alimentation des animaux d'élevage et les conséquences qui en résultent pour la santé des consommateurs, il est indiqué que le Royaume-Uni a décidé d'interdire l'utilisation des farines dès juillet 1988, mais n'a en revanche pas cessé d'exporter vers les autres pays membres de l'union européenne. La France a interdit l'importation de ces farines en août 1989, mais les matières à risque ont tout de même continué à être importées (farines de viande et d'os – Meat and Bone Meal, préparations pour l'alimentation des animaux à base de produits carnés, avec un pic vers 1992-1993).

Le temps d'incubation de la maladie, que ce soit pour l'animal ou l'homme, dépend de la dose infectante (Prusiner, 1998). Comme la consommation de farines en France s'est poursuivie après l'interdiction de leur emploi outre-manche, il est logique de constater un décalage des temps forts de la maladie.

Concernant la transmission de la maladie à l'homme, appelée maladie de Creutzfeldt-Jakob, elle présente les mêmes symptômes de dégénérescence du système nerveux central avec l'apparition de plaques spongieuses caractéristiques. Il existe plusieurs cas de contamination, soit de manière héréditaire (5 à 10 % des cas), de manière sporadique (85 à 90 % des cas), de manière iatrogène (transmission accidentelle, moins de 5 % des cas) ou lors de traitement à l'hormone de croissance (INVS, 2011). Le nombre de cas reste stable (entre 100 et 200 cas par an) sur les dix dernières années (Figure 1- 10).

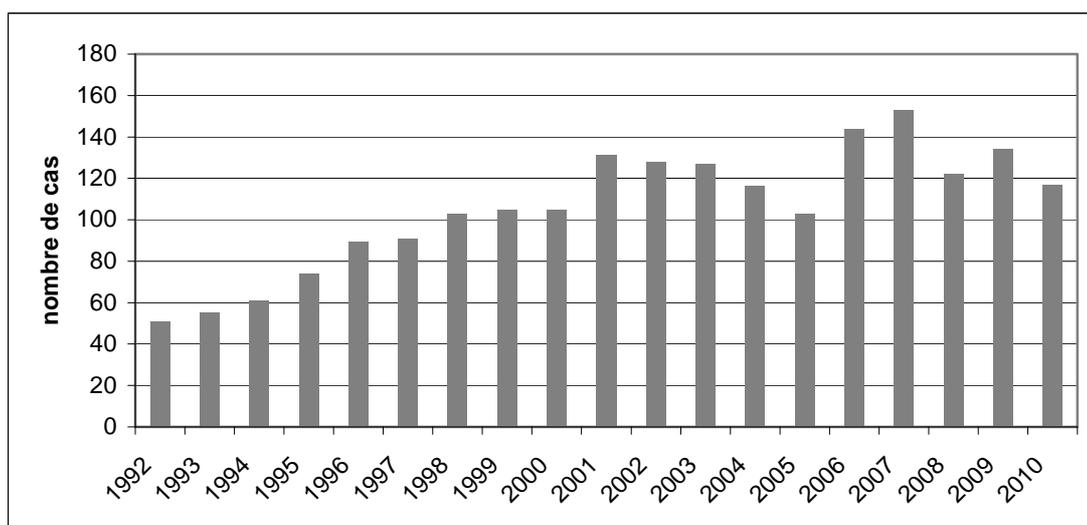


Figure 1- 10 : Nombre de décès certains ou probables de maladie de Creutzfeldt-Jakob en France (INVS, 2011)

Ainsi, si la majorité des co-produits animaux étaient destinés à la fabrication de farines animales (SIFCO), l'évolution de la réglementation faisant suite à l'ESB et à ses possibles transmissions à l'homme a considérablement limité son utilisation à partir des années 1990.

1.1.4.3. Réglementation et incidence sur la filière

L'interdiction de l'emploi des farines animales pour nourrir d'autres espèces, plus particulièrement les ruminants, date de juillet 1990 au niveau réglementaire. La mise en évidence de l'implication des farines de viande osseuse dans la transmission de la maladie dite de la vache folle, ou encéphalopathie spongiforme bovine, a entraîné une série de textes législatifs (le dernier en date est l'arrêté du 24 Août 2001). De ce fait, toutes les farines animales (y compris celles de poisson) sont interdites dans l'alimentation des ruminants, quel que soit leur âge, ainsi que les graisses animales obtenues à partir des os et des farines animales. Depuis cette première interdiction, plusieurs mesures (Tableau 1- 9) visant à la sécurisation du traitement des déchets animaux ont été prises au niveau français et européen.

Date	Mesure
Juillet 1990	Interdiction des protéines animales dans l'alimentation des bovins (sauf pour ce qui concerne les protéines laitières, les ovoproduits et les protéines issues des poissons et des produits de la mer)
Décembre 1991	Qualification des déchets animaux selon leur niveau de risque «matières à haut risque » et « matières à bas risque »
Décembre 1994	Extension de l'interdiction des protéines animales à l'ensemble des ruminants
Juin 1996	Interdiction d'incorporation des cadavres et des saisies d'abattoir dans l'alimentation animale et retrait des matériels à risque spécifié
Février 1998	Traitement des farines animales par le procédé 133 °C/3 bars/20 min appliqué à des particules de diamètre inférieur à 50 mm
Novembre 2000	Suspension de l'emploi des farines et de certaines graisses d'origine animale pour l'alimentation de toute espèce de rente
Décembre 2000	Exclusion de la chaîne alimentaire des ruminants abattus d'urgence pour cause d'accident

Tableau 1- 9 : Principales mesures de sécurité sur l'utilisation des farines animales.

Chez les animaux non ruminants (monogastriques), les farines de viande et les graisses animales obtenues à partir d'os et de farines animales sont également interdites. En revanche, les farines de poissons, les farines de plumes hydrolysées, le phosphate bicalcique dérivé d'os et les graisses issues de farines de poisson sont admises.

Pour la pisciculture, les farines de viande et les graisses animales obtenues à partir de farines animales sont interdites ; en revanche, l'utilisation de farines de sang, des protéines hydrolysées de non ruminants est de nouveau autorisée depuis 2006 (Arrêté du 30 janvier 2008) pour l'alimentation des animaux d'élevage.

Enfin, chez les animaux de compagnie (Pet-Food), les farines de viande et les graisses peuvent être utilisées (Arrêté du 21 novembre 2001).

Ainsi, les co-produits ont été classés en 3 catégories (Règlement n° 1774/2002) en fonction des suspicions de maladies et des risques qu'ils peuvent représenter pour la santé ou l'environnement (Tableau 1- 10). Les co-produits animaux issus de produits destinés à l'alimentation humaine sont classés dans la catégorie 3

Catégorie 1	Catégorie 2	Catégorie 3
Animaux suspectés d'encéphalopathie spongiforme transmissible Ruminant atteint d'ESB (inclut les animaux morts) Matériel issu du traitement des eaux usées (usines de cat.1) Animaux de compagnie, de zoo ou de cirque Animaux d'expérimentations Produits animaux contenant des résidus de substances à risque ou de contaminants environnementaux Déchets de restauration internationaux.	Fumier ou résidu digestif de mammifères Matériel issu du traitement des eaux usées (usines de cat.2 et 3) Produits contenant des résidus vétérinaires Animaux morts ou tués à la ferme Poissons comportant des signes cliniques de maladie	Déchets animaux de produits destinés à la consommation humaine Sang, cuirs et peaux de non ruminants qui ont passé une inspection ante mortem Coquilles, co-produits de pisciculture et œufs fendus sans aucun signe de maladie clinique Lait d'animaux sains Produits alimentaires destinés aux animaux Poissons et intestins de poissons Sang, cuir, sabots, plumes et poils d'animaux sans signes de maladies Déchets de restauration incluant les huiles de chauffe.

Tableau 1- 10 : Catégories de co-produits animaux.

1.1.4.4. Les procédés de fabrication de farines animales

Le schéma des procédés de fabrication des farines animales, généralement mis en oeuvre par les entreprises d'équarrissage comporte plusieurs étapes (Figure 1- 11). Il utilise comme matière première les co-produits de la production d'aliments pour animaux, mais aussi ceux des abattoirs, des usines de transformation de viande et des boucheries. Les matières premières sont traitées peu de temps après leur réception afin de limiter la durée de stockage.

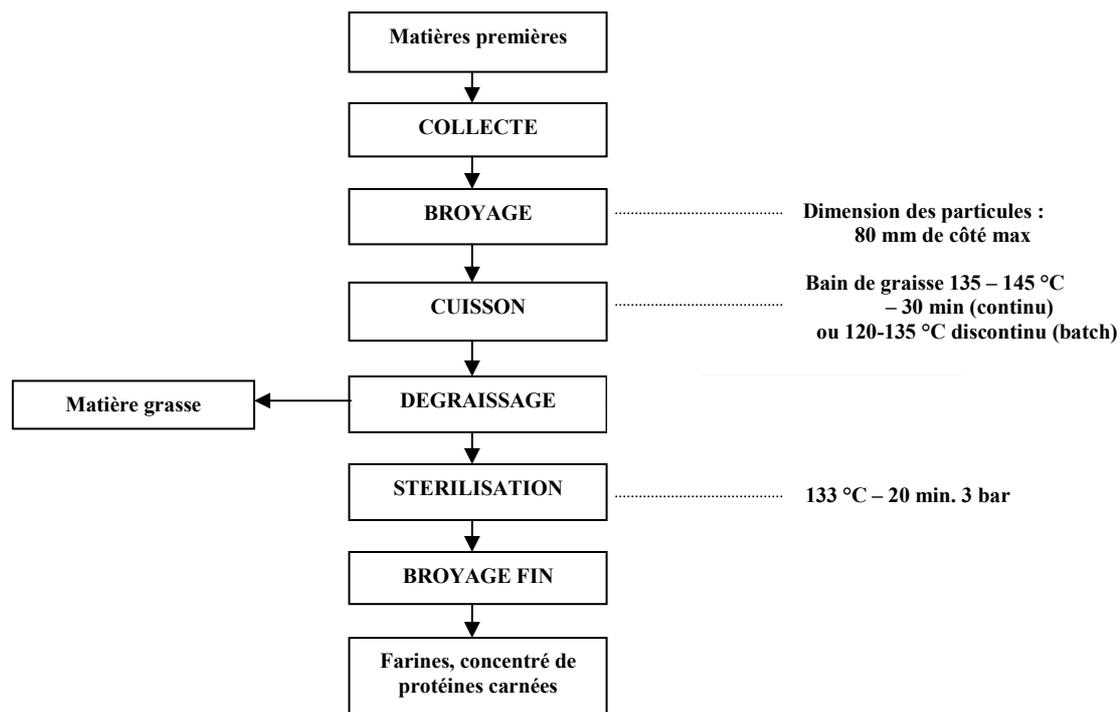


Figure 1- 11 : Schéma de fabrication des farines animales

Il existe deux types de procédés, en discontinu par batch et en continu (Petitjean, 1996). Le procédé en discontinu, largement utilisé dans les années 70, est particulièrement long du fait d'une cuisson par batch (3 h 30 de cuisson). Le dégraissage est dans la plupart des cas effectué par pressage. Pour en augmenter l'efficacité, d'autres techniques sont employées comme la centrifugation ou l'extraction par des solvants organiques, qui peuvent abaisser le taux de graisses résiduelles du gâteau protéique entre 2 et 5 %.

Au début des années 90, il existait quatre procédés en continu utilisés au Royaume-Uni :

- Le procédé Stord Duke : après broyage (taille des particules 20-50 mm), les déchets animaux sont cuits dans un bain d'huile à une température de 135 °C à 145 °C, pendant 30 minutes à pression atmosphérique. Le gâteau protéique obtenu est ensuite pressé à chaud pour extraire les graisses, puis broyé pour obtenir la farine.

- Le procédé Stord Bartz: les déchets animaux broyés (20-50 mm) sont chauffés entre 22 et 35 minutes à 125 °C par de la vapeur injectée par des disques rotatifs qui occupent toute la longueur du four. La matière obtenue est ensuite pressée pour extraire les graisses, puis broyé pour obtenir la farine.

- Le procédé Anderson Carver-Greenfield : les déchets sont broyés finement (<10 mm) puis mélangés avec du suif chaud afin de former une boue. Ce mélange est acheminé dans un four chauffé par de la vapeur à 125 °C sous un vide partiel. Après un chauffage de 20 à 25 minutes, le produit est centrifugé et mis sous filtre-presse afin de séparer les graisses.

- Le procédé Protec De-Watering : le produit brut est finement broyé (10 mm) puis chauffé pendant 3 à 7 minutes à 95 °C. Les phases liquides constituées par l'eau et les graisses sont éliminées par centrifugation ou par pressage. La phase solide est déshydratée par un chauffage entre 120 et 130 °C.

De nombreuses variantes de ces procédés sont aujourd'hui employées, majoritairement pour la fabrication de protéines animales transformées (PAT), utilisant des modifications technologiques. A titre d'exemple, le Tableau 1- 11 rassemble plusieurs procédés de traitement des sous-produits pour la production de graisses et de farines et extraits protéiques, qui ont fait l'objet de brevets.

Brevet	Référence	Revendication principale
Appareillage pour la production de fourrage et de gras à partir de matière première animale	US 4593614 (Berge et al., 1985)	-un appareil de chauffage des matières premières, -une presse pour séparer en deux phases, liquides et solides - un séchoir pour la matière solide -un évaporateur pour la matière liquide
Procédé de traitement d'os	FR 2600337 (Pechenart, 1986)	Procédé de traitement des os pour obtenir des os à gélatine traités par voie enzymatique puis acide afin d'obtenir une poudre riche en protéines
Procédé d'extraction protéique par hydrolyse enzymatique	FR 2637644 (Linder et al., 1995)	Procédé de séparation d'une base protéique à partir de produits d'abattage, consistant en une hydrolyse enzymatique (30-60 min.) puis un chauffage (>80 °C, 30-120 min.)
Procédé de fabrication d'un produit protéique à partir de matière animale contenant des os	US 5141763 (Hansen et al., 1991)	Procédé de production de protéines comprenant les étapes : -mélange avec de l'eau - séparation en deux phases solides à l'aide d'un l'hydrocyclone -traitement de la phase osseuse à l'eau chaude ou vapeur pour récupérer les protéines - conditionnement des protéines de viande
Os stabilisé dégraissé et méthode de production	EP 0020722 (Wojcik, 1979)	Procédé continu de nettoyage et de stabilisation des os pour fabriquer de la gélatine de qualité supérieure
Procédé continu d'obtention de gélatine à partir de poudre d'os et gélatine obtenue par ce procédé	FR 2625412 (Moy et al., 1987)	Procédé de fabrication de gélatine, par traitement acide de la poudre d'os, puis second traitement acide entre 60 et 85 °C à pH compris entre 1,5 et 4
Récupération du gras et des farines de viande à partir de produits animaux	US 4137335 (Holm et al., 1974)	- chauffage indirect de la matière première - séparation des solides et des liquides - les solides forment une première farine de viande - les liquides sont dégraissés et concentrés et séchés pour former une seconde farine de viande
Procédé de séparation et de récupération des graisses et protéines depuis une matière organique	US 4361590 (Wojcik, 1980)	- pressage de la matière organique - liquéfaction du gras par chauffage - séparation du gras et de l'eau contenant des résidus protéiques - séchage pour stabilisation - stérilisation par chauffage
Procédé de production de protéines en poudre à partir de matière animale	US 4389423 (Madsen, 1981)	- broyage de la matière osseuse - chauffage au dessus de 100 °C - séparation en une phase fluide et une phase contenant les protéines et les os - séchage de la phase osseuse protéique - séparation des protéines et des os - séparation de la phase fluide en une phase aqueuse et une phase grasse - purification des graisses, atomisation des protéines
Extraction des protéines des os de porc	US 4402873 (Vollmer et al., 1982)	- broyage des os - hydrolyse enzymatique (papaïne) - chauffage (55-70 °C) en présence de NaCl, puis inactivation des enzymes - séparation des liquides et des fragments d'os - centrifugation des liquides en graisse et concentré protéique - chauffage doux (55-60 °C) du mélange osseux durant 3 h 30, puis montée en température 10 minutes jusqu'à 90 °C. Cuisson à 90 °C durant 30 minutes puis refroidissement rapide à 65 °C.
Procédé de préparation d'un hydrolysate de protéines à partir de produits animaux	EP 0823998 A2 (Blortz et al., 1997)	- utilisation de protéases sur des produits fumés contenant des protéines

Tableau 1- 11 : Exemples de procédés de traitement es sous-produits animaux pour la production de graisse et d'extraits protéiques

Mais la réglementation européenne (Règlement n° 1774/2002) indique qu'il faut stériliser les co-produits à une température de 133 °C (chauffage à la vapeur) pendant au moins 20 min à une pression de 300 kPa pour un usage alimentaire.

L'incidence de la fabrication de farines sur le développement de maladies est controversée. En effet, bien que les Etats-Unis aient adopté certaines des mesures de la réglementation européenne à titre préventif, il reste le sentiment que toutes les précautions ne sont pas nécessaires puisqu'aucun cas d'ESB n'a été détecté sur des animaux élevés aux Etats-Unis, en dehors des animaux contaminés en provenance du Canada (OIE). Cependant, l'épidémie déclenchée au Royaume-Uni montre que le procédé de fabrication utilisé jusqu'alors n'inactivait pas le prion (Taylor, 1998) ; un dérivé du procédé Anderson Carver-Greenfield system est mis en cause. Les travaux corrélés de Taylor (Taylor et al., 2003) et Schreuder (Schreuder et al., 1998) suggèrent que le couple pression/température employé par l'union européenne ne permet pas l'élimination de la totalité des germes pathogènes s'il sont fortement concentrés. Les conditions recommandées seraient efficaces seulement si les produits à haut risque (cerveau et moelle épinière) sont exclus des matières premières employées.

Par ailleurs, même si les conditions opératoires permettent de maintenir une sécurité alimentaire par la gestion des points critiques, elles ont une incidence sur les propriétés fonctionnelles des constituants des co-produits. En effet, les co-produits de la viande sont riches en protéines et contiennent des nutriments essentiels comme des acides aminés, des minéraux, des vitamines et des acides gras qui sont sensibles à la température (Liu, 2002). Travailler à un pH de 9 permet une meilleure extractibilité des protéines (Peyron et al., 2006), et à une température de 20 °C pendant 60 min garantit une extraction des protéines, qui conservent de bonnes propriétés fonctionnelles, telles que l'obtention de gels, d'émulsions ou de mousses (Selmane et al., 2008).

Au vu de toutes ces restrictions d'utilisation des farines animales et des contraintes sur leur fabrication, même si le retour de l'utilisation de telles farines s'amorce (la commission européenne s'apprête à réexaminer leur interdiction), il apparaît indispensable pour la filière de transformation animale de développer des voies alternatives permettant une meilleure valorisation économique de ses co-produits, par des procédés garantissant un impact minimum sur l'environnement et sans risque pour la santé humaine. Plusieurs voies pourraient répondre à ces objectifs.

1.1.5. Les voies de valorisation des co-produits de l'industrie des produits carnés

1.1.5.1. La fabrication de concentré de protéines pour animaux de compagnie (Pet Food)

L'utilisation des co-produits de la transformation des produits carnés pour l'alimentation des animaux de compagnie ne date pas d'aujourd'hui, avec le circuit court domestique. Mais l'intensification de la production industrielle de viandes et charcuteries a donné lieu au développement de l'industrie du Pet Food, avec toute une gamme de produits qui vont du simple granulât aux véritables « plats cuisinés ».

Les procédés industriels employés pour l'obtention de nourriture pour animaux de compagnie, autrement appelées protéines animales transformées (PAT) (Figure 1- 12), sont un dérivé de ceux utilisés pour l'emploi de farines animales, avec les mêmes étapes de transformation.

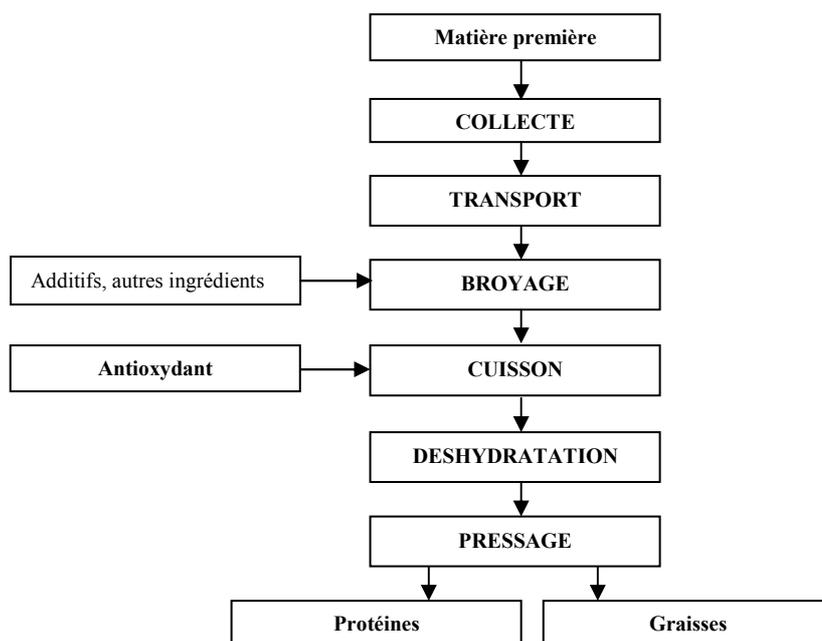


Figure 1- 12 : Schéma de fabrication des aliments pour animaux

Le mélange de plusieurs ingrédients au niveau du broyage, par exemple l'ajout de grains de maïs, permet la fabrication de produits plus élaborés. Les concentrés protéiques obtenus après séparation des graisses sont granulés ou incorporés dans des préparations. Le débouché de telles protéines animales transformées pour le Pet Food représentait en 2009 environ 2 millions de tonnes de co-produits de catégorie 3 (pour un peu plus d'un million de

tonnes de co-produits de catégorie 1 et 2), à partir desquelles sont produites 440 000 tonnes de PAT et 360 000 tonnes de graisses animales en France (SIFCO). La production a tendance à baisser depuis 2001, bien que le signe d'une relance de l'activité s'amorce depuis 2007 (Figure 1- 13).

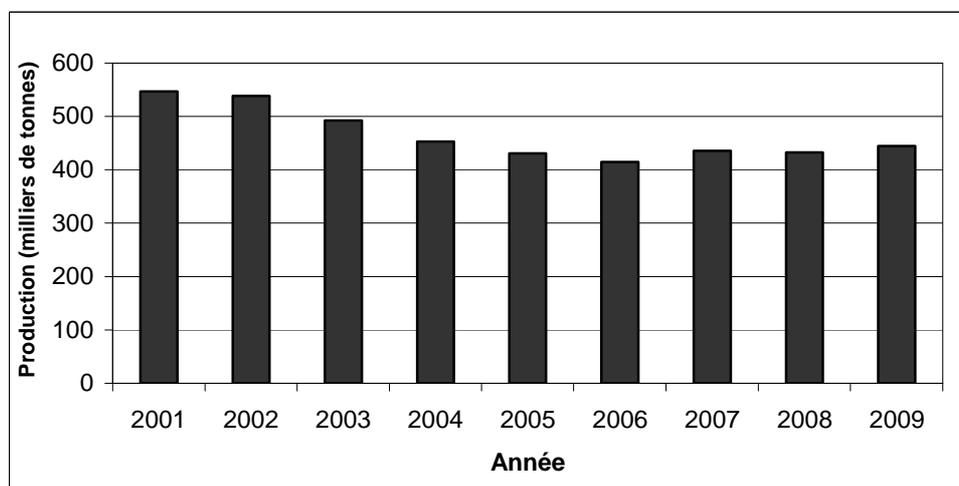


Figure 1- 13 : Quantités de PAT produites en France de 2001 à 2009

Economiquement, le marché du Pet Food est plutôt en expansion avec des gammes de produits élaborés qui assurent le fonctionnement de l'activité, proposées majoritairement par des groupes comme Mars et Nestlé qui possèdent chacun une division spécifique dans l'alimentation pour animaux de compagnie.

Bien que ce marché soit encore ouvert à l'innovation par rapport à des spécificités de composition des concentrés protéiques, il est dominé par des entreprises, souvent aptes à traiter les différentes catégories de co-produits, parfois spécialisées pour certains animaux (volailles), couplées au producteur de viande ou indépendantes (collecteurs de produits), et surtout capables de valoriser les issues du fractionnement vers d'autres marchés, comme ceux de la lipochimie pour les matières grasses, ou à plus forte valeur ajoutée comme les collagènes ou la gélatine issue des protéines, voire même des fertilisants (Tableau 1- 12).

Débouché	2008	2009
Os, gélatine	19	17
Fertilisants	104	75
Alimentation Animale	36	36
Pet Food	270	314
Energie	2	1,6

Tableau 1- 12 : Evolution des différents débouchés des protéines animales entre 2008 et 2009 (en milliers de tonnes) (SIFCO, 2010)

1.1.5.2. *La fabrication de matières grasses.*

Après les concentrés de protéines, les matières grasses animales constituent le second débouché de la transformation des co-produits de l'industrie des produits carnés. Leur production en France suit de près celle des protéines animales transformées (Figure 1- 14), car elles sont issues des mêmes procédés de transformation, que ce soit sous forme de farines animales (Figure 1- 11) ou de concentrés protéiques pour animaux de compagnie (Figure 1- 12).

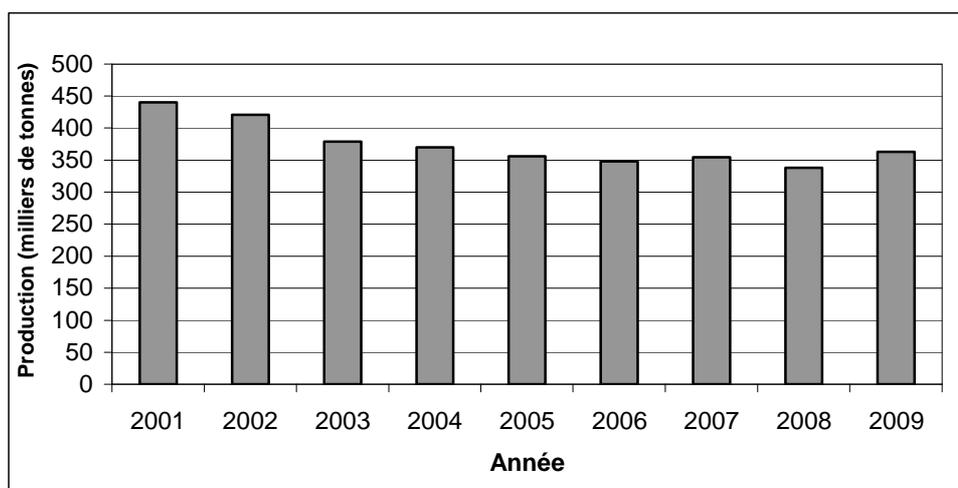


Figure 1- 14 : Quantités de graisses produites en France de 2001 à 2009

La séparation des matières grasses animales, souvent appelée « filière fonte », peut être menée sans ajout d'eau (fonte par voie sèche), par cuisson et pressage ou extraction par solvant, comme dans le cas des procédés de fabrication des farines animales (Petitjean, 1996; Taylor et al., 2003). Certains procédés proposent d'utiliser des matières grasses recyclées pour favoriser la séparation des graisses animales des co-produits (Greenfield, 1953) (Figure 1- 15).

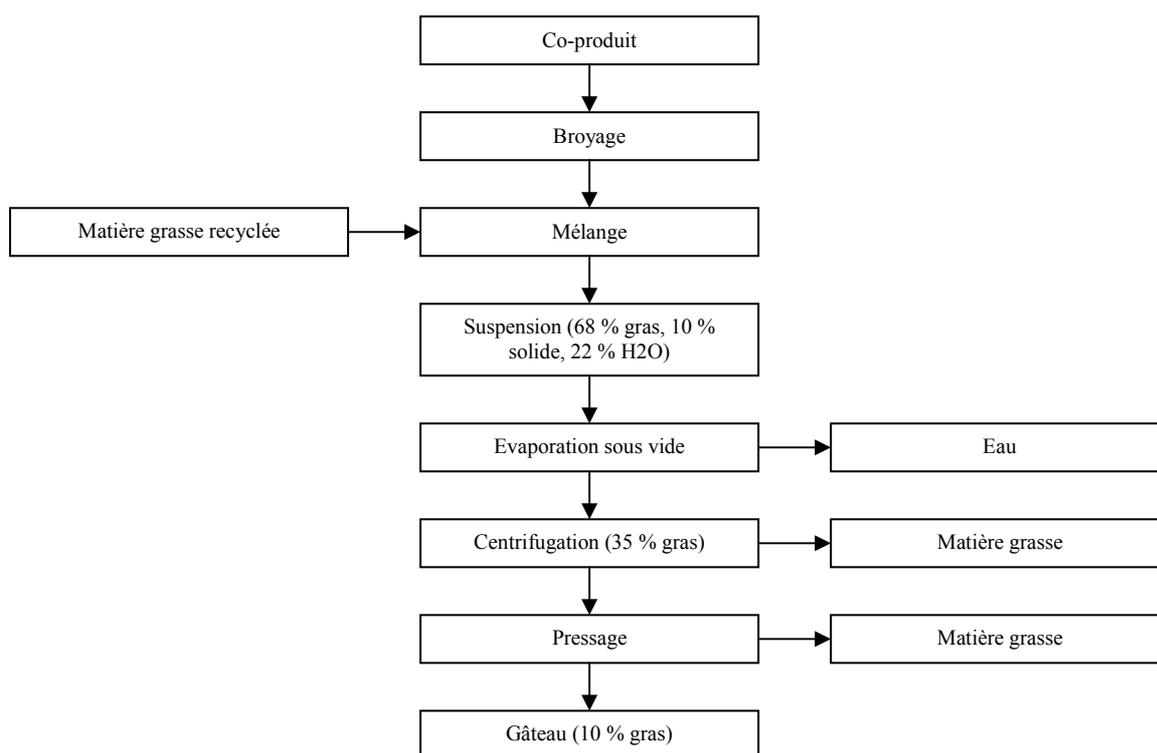


Figure 1- 15 : Procédé de séparation des matières grasses animales par fonte en présence de matières grasses recyclées (Greenfield, 1953)

Enfin, pour obtenir des graisses de meilleure qualité alimentaire, l'extraction est menée en présence d'eau (fonte humide) suivie d'une séparation mécanique de la phase aqueuse et du solide (Figure 1- 16). Les matières grasses obtenues subissent une opération dite de raffinage afin de concentrer les graisses, par déshydratation.

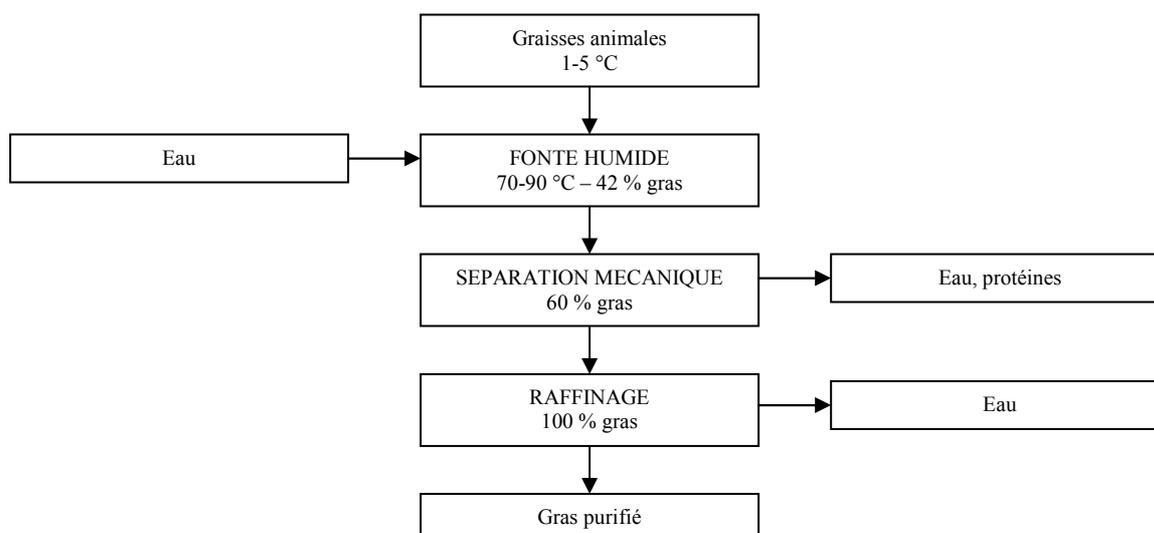


Figure 1- 16 : Procédé d'extraction des lipides par fonte humide (SIFCO, 2010)

Une fraction des matières grasses animales ainsi produites est utilisée dans l'alimentation animale ou pour le Pet Food, mais le principal débouché reste l'oléochimie, traditionnelle avec la fabrication de savons, ou plus fine pour des applications pharmaceutiques (Taylor et al., 2003) (Tableau 1- 13). Une voie de valorisation intéressante, en particulier pour les graisses impropres à la consommation humaine ou animale, serait leur transformation en biocarburant par transestérification au méthanol (Berrios et al., 2009; Canoira et al., 2008; Van Gerpen, 2005; Verhé et al., 2004). Une étude récente de l'ADEME, comparant les bilans énergétiques des bio esters carburants, place les biodiesels d'huile animale en tête, devant les biodiesels d'origine végétale (ADEME, 2010).

Débouché	2008	2009
Alimentation humaine	5	10
Alimentation animale	73	88
Pet-Food	51	54
Oléochimie-savonnerie	195	189
Energie	3	9
Autre	11	13

Tableau 1- 13 : Evolution des différents débouchés des matières grasses entre 2008 et 2009 (en milliers de tonnes) (SIFCO, 2010)

1.1.5.3. La fabrication de gélatine

La fabrication de gélatine est une voie traditionnelle de valorisation des co-produits animaux, bien connue depuis fort longtemps pour des usages alimentaires domestiques (plats en gelée) ou artisanaux techniques (colle à bois). La gélatinerie industrielle en a élargi les applications, alimentaires (confiserie, crème anglaise, produits charcutiers, adjuvant émulsifiant, clarifiant des bières et des vins, enrobage de capsules pharmaceutiques, etc.) ou non alimentaires (colles, adhésifs, émulsifiant en cosmétique ou pour la formulation d'insecticide, agent moussant pour les extincteurs, colles papier et tapisserie, milieu de culture microbiologique, films, matériaux, etc.).

La gélatine est, comme de nombreux extraits naturels, une appellation générique pour une famille de produits de nature polypeptidiques, issus de l'hydrolyse partielle du collagène, protéines fibreuses contenues dans la peau, les tissus conjonctifs et les os animaux (De Wolf, 2003; Grobber et al., 2005). L'origine animale, la fraction d'animal, mais aussi les conditions d'extraction et de transformation définissent toute une gamme de gélatines, en fonction du taux de dénaturation et de dégradation du collagène, des masses moléculaires (105 à 300 kDa) et des propriétés chimiques qui les caractérisent (solubilité, pouvoir épaississant et gélifiant,

émulsifiant et moussant, filmogène et thermoplastique, collant, etc.), et qui sont à l'origine de leurs multiples applications.

Ainsi d'un point de vue technique et commercial, on distinguera les gélatines de type B, obtenues par traitement alcalin des matières premières dont le point isoélectrique est compris entre 4,5 et 5,2 (Highberger, 1939), des gélatines de type A, obtenues par traitement acide du collagène, dont le point isoélectrique est compris entre 6,3 et 9,5. Une classification en fonction du pouvoir gélifiant est aussi rencontrée.

Le traitement alcalin est un procédé traditionnellement appliqué aux sous-produits de l'industrie de la tannerie (rognures de peaux d'ovins et de bovins) et aux os dégraissés (Hinterwaldner, 1977). La matière brute est mise en contact avec un lait de chaux pendant plusieurs semaines à température ambiante, avant extraction à l'eau chaude de la gélatine B libérée (Ockerman et al., 1988). Le traitement acide est surtout appliqué aux peaux de porc soigneusement nettoyées et stockées au froid. La matière est mise en contact avec une solution acide minérale diluée pendant une journée avant extraction de la gélatine A libérée. Dans le cas des matières osseuses issues du découpage des carcasses, qui doivent être sélectionnées dans la catégorie 3, c'est-à-dire provenant d'animaux propres à la consommation humaine pour permettre les applications alimentaires des gélatines (Grobben et al., 2003), les procédés de traitement alcalins ou acides nécessitent un prétraitement destiné à éliminer les graisses et les viandes résiduelles, puis à libérer la matière organique de l'os, appelée osséine, par dissolution de la matière minérale, essentiellement constituée de phosphate de calcium (Figure 1- 17).

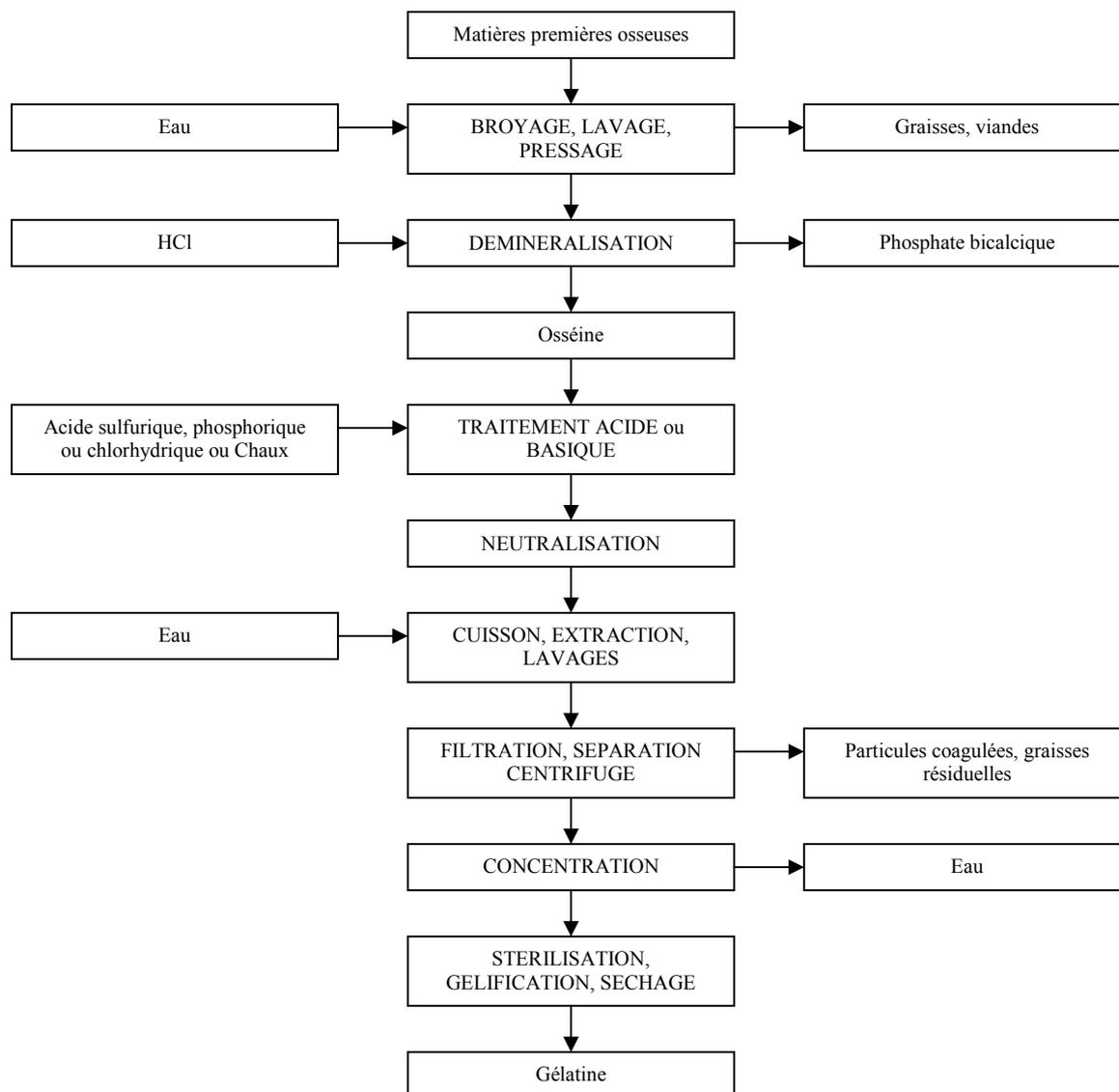
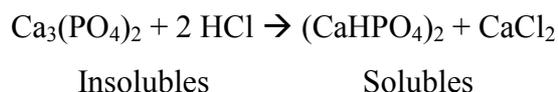


Figure 1- 17 : Schéma de fabrication général de gélatine

Le dégraissage et le déviandage sont effectués par lavage à l'eau chaude (Grobben et al., 2003), selon des procédés analogues à ceux utilisés pour la production de concentré protéique pour animaux de compagnie, voire de farines animales.

La dissolution de la matière minérale de l'os est effectuée par traitement à l'acide chlorhydrique :



Les phosphates bicalciques sont précipités par de la chaux, séparés, lavés et séchés pour une commercialisation en nutrition animale (Fuller, 2004; Lima et al., 1997). L'osséine,

insoluble dans ces conditions de prétraitement acide de l'os dégraissé, est alors soumise au traitement acide ou basique dilué pour libérer la gélatine de type A ou B.

Pour l'ensemble de ces co-produits, l'extraction de la gélatine est ensuite menée après neutralisation des réactifs acides ou basiques, par cuisson et lavages successifs à l'eau chaude (hydrolyse du collagène dénaturé et solubilisation de la gélatine à température contrôlée à 50-60 °C, puis augmentation de 10 °C à chaque nouveau lavage jusqu'à atteindre la température d'ébullition de l'eau) (Grobben et al., 2003), purification des extraits (bouillon de gélatine) par filtration et centrifugation (élimination des impuretés en suspension et des traces de graisses résiduelles), concentration par évaporation sous vide jusqu'à des teneurs en matières sèches de 30 à 40 %, stérilisation à 140 °C et gélification par refroidissement rapide, séchage du gel et finition du solide.

Bien que sensible aux conséquences de la crise des maladies liées au prion, et soumis aux réglementations sur les matières premières qui en ont résulté, le marché des gélatines reste un débouché important pour la valorisation des co-produits animaux, avec une évolution de la capacité de production de 130 000 t/an en 1974 à 330 000 t/an en 2009 (Rbii, 2010; Schrieber et al., 2007) dans le monde dont 125 000 t/an en Europe et environ 15 000 t/an en France. L'une des principales applications techniques des gélatines issues d'une hydrolyse plus forte du collagène (masse molaire comprise entre 20 et 90 kDa) était la fabrication de colles animales, avec une demande dans le monde de l'ordre de 30 000 à 50 000 t/an dans les années 1990-2000 (Babel et al., 2000). Mais les applications dans le domaine du collage des bois ont été fortement concurrencées par les colles d'origine synthétique. Elles pourraient retrouver une place intéressante à travers la recherche actuelle de substitution des produits synthétiques d'origine fossile par des produits issus des matières premières renouvelables (produits référencés comme nouvelles colles). Le principal débouché des gélatines dites pures reste le marché alimentaire (55 %) suivi du marché pharmaceutique pour la galénique des médicaments (capsules, tablettes, etc.) (Babel et al., 2000). Le traditionnel marché des émulsions photographiques est fortement réduit par le développement des appareils numériques, cependant la gélatine est toujours employée pour l'impression sur le papier photographique couleur (Gelatin Manufacturer of Europe, 2001).

Dans le domaine agroalimentaire, de nouveaux produits analogues aux gélatines sont apparus, désignés sous l'appellation de collagènes hydrolysés, obtenus selon un procédé original d'hydrolyse enzymatique du collagène d'os de porc frais (Figure 1- 18).

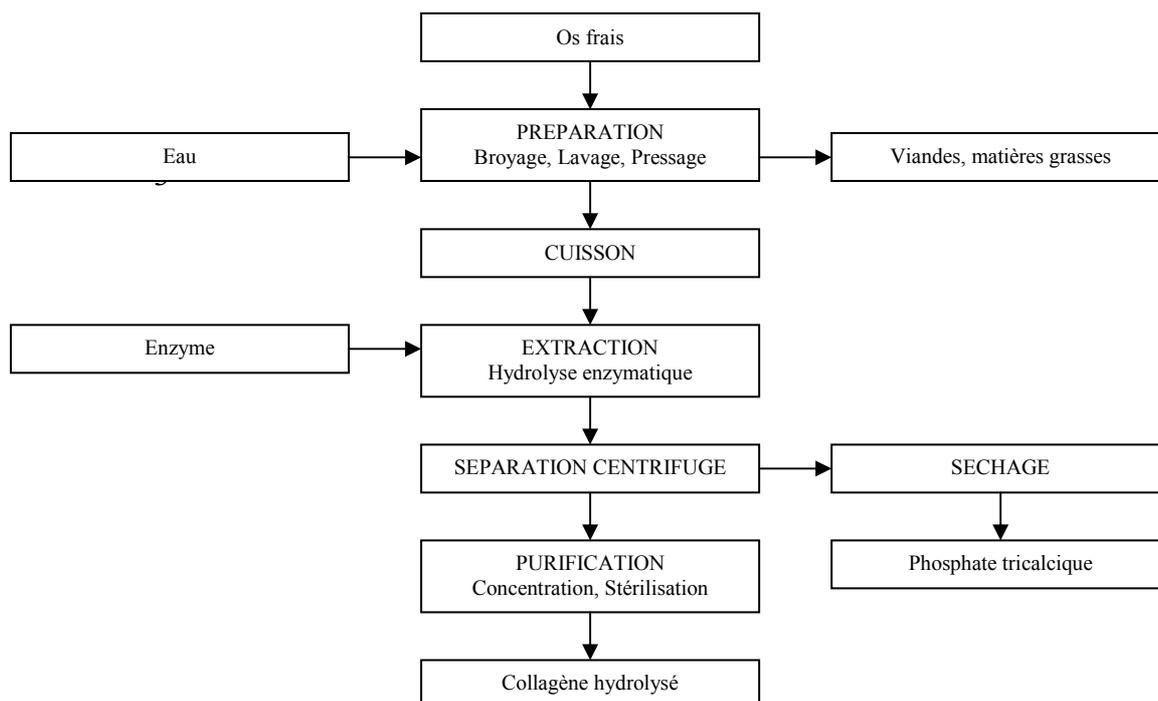


Figure 1- 18 : Procédé de fabrication de collagène hydrolysé et de phosphate tricalcique (Gelatin Manufacturer of Europe, 2011)

Les dispersions collagéniques sont généralement employées en agro-alimentaire pour la fabrication de saucisses (Niemeijer, 2003), par ajout d'un mélange de collagène et de viande fermentée, fumée, cuite, etc. dans un boyau, souvent par un système de co-extrusion.

1.1.5.4. La fabrication de produits à haute valeur ajoutée

Trois familles d'extraits naturels obtenus à partir des co-produits animaux peuvent être considérées comme des cibles de produits à haute valeur ajoutée : les collagènes, les protéoglycanes et les arômes.

1.1.5.4.1. Les collagènes

Les collagènes sont des actifs recherchés dans les domaines médicaux (contribution à l'amélioration des propriétés mécaniques des tissus, pouvoir hémostatique, croissance cellulaire, adjuvant de cicatrisation) (Lee et al., 2001; Olde Damink, 2003), cosmétiques (soins de la peau et des cheveux) (Dubois, 1999) et même nutraceutiques et pharmaceutiques (lutte contre l'arthrose) (Deal et al., 1999; Guillerminet et al., 2010). Les matières premières sont essentiellement les peaux de jeunes bovins et de porcs, ainsi que les tendons pour l'obtention de collagène en solution ou à l'état fibreux. Les procédés d'obtention (Tableau 1-14) définissent la classe des collagènes.

Collagène	Procédé d'obtention
Collagène natif acido-soluble	-traitement préliminaire de la peau afin d'éliminer les impuretés (4 °C- 5 °C) -broyage du tissu, mise en contact avec une solution de NaCl 0,2 M, centrifugation -homogénéisation dans l'acide acétique 0,1 ou 0,5 M, 24 à 48 h, puis centrifugation -purification du surnageant par dialyse, précipitation et remise en solution dans l'acide acétique
Collagène acido-soluble/insoluble en solution	Mélange de collagène acido-soluble et insoluble. Les télopeptides sont conservés au cours de leur préparation, il n'y a pas eu de dégradation au cours de la fabrication
Collagène acido-soluble natif en solution alcoolique	Identique au collagène natif acido-soluble, excepté qu'il y a purification du collagène par précipitations et dialyses successives avant de l'introduire dans de l'alcool à 95 °
Collagène acido-soluble en solution tamponnée	Identique au collagène natif acido-soluble, excepté qu'il y a extraction du collagène par l'acide acétique, puis neutralisation et dialyse. Après dialyse, le collagène est mélangé à une solution tampon (phosphate ou citrate), puis centrifugé pour séparer la phase soluble des agrégats insolubles.
Collagène sans télopeptides	Il y a élimination des liaisons réticulaires par coupure chimique alcaline (3 à 8 jours) ou enzymatique des télopeptides. Le milieu est ensuite neutralisé puis acidifié jusqu'à précipitation du collagène sous forme de fibres qui sont purifiées par dialyse contre de l'eau déminéralisée stérilisée, avant séparation et conditionnement.
Collagène sans télopeptides associés à des Glycosaminoglycanes (GAG)	Une solution de chondroïtine est ajoutée à la solution de collagène obtenue par le procédé décrit précédemment. L'ensemble est mélangé, et neutralisé jusqu'à pH 6,8 à 7,4. Le mélange est ensuite agité, filtré et conditionné.
Collagène insolubles ou fibreux	-élimination mécanique ou chimique des poils, avant broyage, puis -extraction acide -dilution -précipitation -déshydratation -séchage Le collagène fibreux peut être lyophilisé en présence ou non d'autres substances (extraits végétaux, GAG, élastine, etc.).

Tableau 1- 14 : Procédés d'obtention et classement des divers collagènes, solubles et insolubles (Dubois, 1999)

A l'exception des collagènes hydrolysés par voie enzymatique, qui trouveraient des applications dans le domaine des compléments diététiques, comme le produit Colnatur[®] (Protein), les co-produits osseux ne sont pas considérés comme une source pour ces collagènes.

1.1.5.4.2. Les protéoglycanes

Les protéoglycanes sont recherchés comme source de mucopolysaccharides acides, couramment désignés sous le nom de glycosaminoglycanes (GAG), qui possèdent des applications connues en cosmétique (soins de la peau, soins capillaires), mais aussi, pour certains d'entre eux (héparine et chondroïtine sulfate), en pharmacie (Deal et al., 1999; Jackson et al., 2006; Pertuiset, 2002).

Les matières premières pour la préparation de ces molécules sont sélectionnées parmi les co-produits animaux et collectées spécifiquement sous contrôle sanitaire (Tableau 1- 15).

GAG	Matière première	Procédé d'obtention
Acide Hyaluronique	Crêtes de coq Cordons ombilicaux	Broyage, puis traitement visant à éliminer les graisses et les tissus protéique (solvant organique, solution alcaline ou prétraitement enzymatique)
Chondroïtine sulfate	Cartilages de trachées, cloisons nasales de bovins Cartilages de requins, de roussette ou de raie	Extraction : libération du GAG de son association protéo-glucidique - dissolution par hydrolyse alcaline ou enzymatique - séparation des matières solubles et des tissus insolubles (filtration ou centrifugation) - précipitation des GAG par un solvant ou par complexation avec des sels d'ammonium quaternaires.
Dermatane sulfate	Valve cardiaque, peau, viscères	Purification : isolement du GAG recherché - par précipitation : élimination des éléments protéiques par un mélange d'alcool et de chloroforme, puis séparation sélective d'un GAG par précipitations successives - par chromatographie échangeuse d'ions, de type anionique. Les GAG sont libérés en fonction de leurs caractères polyanioniques par des solutions salines de concentration constante
Héparane sulfate	Viscères majoritairement	
Kératane sulfate	Cornée, cartilage, ligament, trachée de bovins	

Tableau 1- 15 : Matières premières et conditions d'extraction et de purification des GAG (Gallot et al., 1999)

1.1.5.4.3. Les arômes

Les arômes naturels obtenus à partir des co-produits de l'industrie des produits carnés ont été largement étudiés (Office de l'élevage, 2007; Stute et al., 1998; Voldjberg Sorensen, 2008). Leurs compositions aromatiques sont différentes des arômes provenant des muscles cuits, avec une plus forte concentration en composés alcooliques, et une plus faible teneur en aldéhydes (Wettasinghe et al., 2001).

1.1.5.5. La production d'énergie, de compost et d'engrais fertilisants.

La production de biogaz par méthanisation des co-produits animaux ou des animaux de rebut a été proposée (ADEME). Le procédé consiste en une digestion enzymatique des matières organiques (Figure 1- 19). Le résidu solide, appelé digestat, est séché pour une utilisation en compostage ou un traitement par incinération, alors que le biogaz, mélange gazeux composé essentiellement de méthane et de gaz carbonique, peut être utilisé pour la production de chaleur, d'électricité ou de carburant.

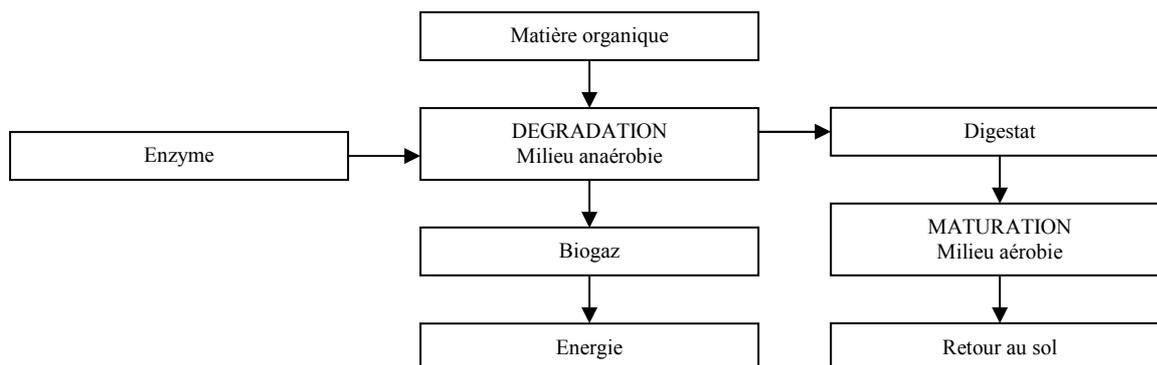


Figure 1- 19 : Schéma de fabrication du biogaz

Par ailleurs les farines de viande et d'os ont été utilisées en tant que fertilisants pour la culture de céréales et de l'ivraie (Jeng et al., 2006), en raison de leur teneur en azote (8 %), en phosphore (5 %) et en calcium (10 %).

De même, les résidus de la combustion des déchets de viande et d'os, en particulier issus de l'incinération de farines animales, ont été étudiés comme matière première pour l'industrie des phosphates pour la production d'engrais (noir animal), comme agent de fertilisation des sols et de fixation des métaux lourds, ou comme substitut au sable dans les mortiers et bétons (Coutand et al., 2007; Deydier et al., 2005).

*

En conclusion, en dehors des peaux qui font l'objet d'une filière de transformation spécifique (tannage en cuir, production de gélatines), elle aussi fragilisée par la récession et les délocalisations, les voies de valorisation des co-produits de transformation des produits carnés peuvent être séparées en deux grandes catégories :

- Celles s'appliquant à l'ensemble des catégories de co-produits, souvent considérées comme des sous-produits, par des procédés de fractionnement (séparation des graisses et des matières protéiques et minérales) et de transformation (production de concentrés protéiques, de farine animale, de combustibles et d'engrais). Bien que représentant la plus grande partie des débouchés, ces voies apportent peu de valeur ajoutée aux co-produits, voire sont à l'origine d'un coût pour les transformateurs de viande lorsqu'ils entrent dans une filière de retraitement.

- Celles s'appliquant à certaines catégories de co-produits, sélectionnés pour leur qualité de sécurité alimentaire et de composition spécifique. Ces voies sont cependant

soumises à la même contrainte de fractionnement (séparation des graisses, des protéines et des matières minérales). Elles nécessitent la recherche de nouveaux débouchés à plus forte valeur ajoutée pour assurer l'économie des procédés d'extraction et de purification des extraits et raffinats.

C'est dans cette seconde catégorie se situent la recherche de nouvelles valorisations des co-produits de la fabrication du jambon.

1.2. Les co-produits de la fabrication industrielle du jambon

Illustrant l'adage populaire « Dans le cochon, tout est bon », la transformation charcutière du porc propose toute une gamme de produits alimentaires, parmi lesquels le jambon occupe une place de choix. En fonction de savoir-faire traditionnels et de positionnements stratégiques sur le marché des produits charcutiers, certaines industries se sont spécialisées dans la fabrication de jambons, devenus dans certains cas leur image de marque, au bénéfice de leurs autres productions charcutières.

1.2.1. La production industrielle de « jambons »

Bien que dans son sens commun il puisse aussi désigner des produits issus de l'épaule (patte antérieure), le jambon en charcuterie traditionnelle se définit par la cuisse transformée du porc (patte postérieure), qu'elle soit cuite, crue, séchée voire fumée. C'est une charcuterie connue depuis l'antiquité, qui aurait été inventée par les Gaulois, produite principalement dans des pays d'Europe de l'ouest : en Allemagne avec le jambon de Westphalie ou de la Forêt Noire, en Espagne avec le jambon Serrano ou Ibérique, en Italie avec les jambons San Daniele ou de Parme, au Portugal avec le jambon de Chaves, au Royaume-Uni avec le jambon d'York et dans de nombreuses régions de France.

Au niveau mondial, l'Europe produit 23 % du total de la production, derrière la Chine (46 %). La zone de l'accord de libre échange nord américain (ALENA) est en troisième position avec 13 % de la production mondiale.

Au niveau européen, l'Allemagne est le premier producteur de jambon, avec 112 millions de pièces de jambon produites, devant l'Espagne (76 millions). La France est le 3^e

producteur européen avec environ 50 millions de pièces produites, viennent ensuite les Pays-Bas et le Danemark (Van Ferneij, 2010).

En France, le jambon représente 21 % du volume de charcuteries produites, avec 18 % pour le jambon cuit et 3 % pour le jambon sec (§ 1.1.2.2). On retrouve des jambons français provenant de plusieurs régions (Savoie, Béarn, Corse, Auvergne, Ardennes, Vendée, Paris) dont le mode de fabrication et la provenance des porcs sont définis et réglementés par le code des usages de la charcuterie (Institut Français des Industries du Porc). Il existe des produits labellisés sous un sigle de qualité : douze jambons possèdent le label rouge, label de qualité français, et trois sont sous indication géographique protégée (IGP), label de qualité européen (Tableau 1- 16).

Produit	Description
Jambon de Bayonne	Le jambon de Bayonne est une cuisse de porc parée, salée au sel sec des salines du bassin de l'Adour et séchée dans cette zone pendant plus de 7 mois.
Jambon de l'Ardèche	L'aire géographique est localisée dans le sud-est de la France en région Rhône-Alpes. Elle est limitée aux 212 communes du département de l'Ardèche situées en zone de montagne.
Jambon sec et noix de jambon sec des Ardennes	Ces salaisons sèches des Ardennes sont des salaisons au sel sec. Le jambon sec des Ardennes avec os présente une forme de coupe de la couenne en arrondi. La noix de jambon sec des Ardennes est constituée d'une seule pièce, les muscles constitutifs étant réunis entre eux par leur attache naturelle. La noix sèche représente environ 50 % du jambon sec avec os et elle représente environ 63 à 64 % du jambon sec sans os.

Tableau 1- 16 : Les jambons, frais et secs, bénéficiant d'une IGP (INAO)

En parallèle à l'industrialisation des procédés de fabrication visant à l'intensification et la rationalisation de la production, et à la standardisation de la qualité des produits, l'industrie charcutière a cultivé l'image de marque de certains de ses produits, en particulier le jambon sec, comme c'est le cas par exemple de la marque Aoste. Sur son site industriel d'Aoste, en Isère, le groupe français Aoste, associé aujourd'hui au groupe espagnol Campofrio et au groupe américain Smithfield pour former le groupe international Campofrio Food Group, transforme environ 120 000 t de viande par an pour produire 200 000 jambons secs par mois, dont en permanence près de 2 millions sont en phase de séchage. Ces produits sont commercialisés tels quels, ou bien désossés et découpés en tranches et conditionnés pour les circuits de la grande distribution. Parallèlement 3 500 t/an de saucissons et 720 t/an de spécialités de salaison sont produites.

Comme toutes les autres filières de transformation des viandes, la production de jambon génère une quantité importante de co-produits, essentiellement constitués des

matières osseuses fraîches (cas de la fabrication de jambons cuits) et de matières osseuses sèches (cas du désossage de jambon sec pour le tranchage) (Figure 1- 20). Issus des opérations de découpe ou de désosse pour récupérer la majorité de la masse musculaire, ces écarts sont constitués de tissus de nature osseuse (quasi, crosse, os) ou des déchets de viande et de gras (parures).

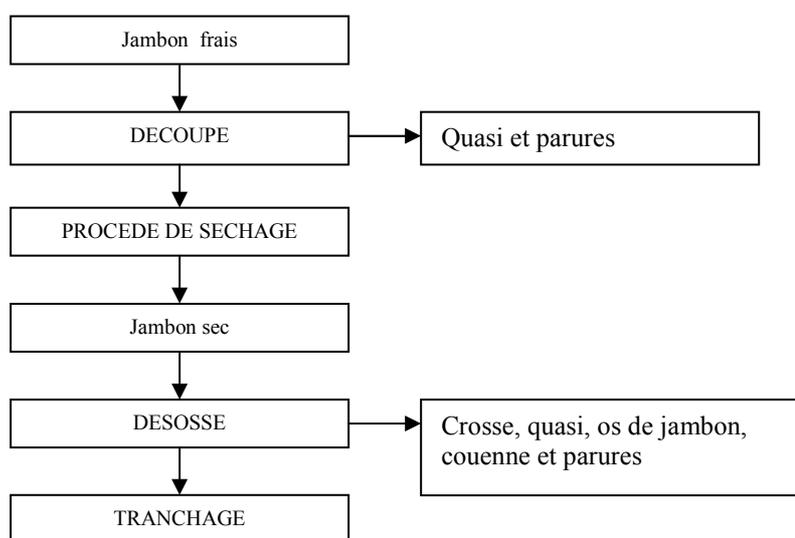


Figure 1- 20 : Schéma de la découpe et du désossage du jambon sec destiné au tranchage

Les flux et proportions de co-produits dépendent bien sûr de la carcasse traitée, de l'origine et de l'âge des animaux, de la qualité de la découpe et de la destination des viandes. Une indication globale peut être apportée par la quantité de co-produits conditionnée en sortie de la chaîne de découpage pour leur collecte et leur retraitement. Elle représenterait, pour Campofrio Food Group 15 000 t/an de matières osseuses pour une transformation de 120 000 t/an de carcasse.

Bien qu'il existe des sociétés qui séparent de façon plus poussée les constituants des co-produits pour une transformation et une commercialisation sous différentes formes [viandes séparées mécaniquement et finement broyées par la société Protéïs-Unicopa (Bannalec) ou France VSM (Montluçon), fémurs déviandés de porc par Zolux (Saintes) pour les chiens], l'essentiel des co-produits sont traités par des entreprises spécialisées, selon les procédés de valorisation décrits précédemment (§ 1.1.5). Les graisses font l'objet d'un circuit séparé et peuvent être réintégrées dans des fabrications, c'est le cas par exemple de la panne utilisée pour recouvrir la partie charnue des jambons secs ou des gras de parage qui sont utilisés pour la fabrication de saucisses.

Cependant, ces co-produits, issus de carcasses sélectionnées pour la qualité des viandes, transformées dans des conditions d'hygiène et de sécurité alimentaires contrôlées, pourraient aussi être considérés comme un gisement de « biomolécules », aux propriétés biologiques et physico-chimiques variées (Tableau 1- 17), intéressant de nombreux secteurs d'applications pour leurs propriétés fonctionnelles.

Organes de l'animal	Propriétés physico-chimiques/Utilisations
Glandes surrénales	Stéroïdes utilisés pour traiter les déficiences des glandes surrénales, - propriétés anti-inflammatoire - contient des hormones comme l'adrénaline ou la noradrénaline
Artères	L'artère bovine peut être utilisée pour une implantation
Bile	Les extraits peuvent augmenter l'activité de sécrétion du foie
Sang	Source d'acides aminés
Cartilage osseux	Utilisé en chirurgie ou en nutrition - source de calcium, de phosphore - la farine d'os est utilisée en tant qu'agent filtrant
Cerveau	Source de cholestérol et de protéines comme la thromboplastine (coagulant) ou la lécithine (émulsifiant, antioxydant)
Duodénum	Contient des hormones comme l'entérogastrone (régulation des sécrétions hormonales de l'estomac) et la sécrétine (stimule la fabrication de suc pancréatique).
Coeur	Valves employées en chirurgie cardiaque
Intestins	Source de GAG (héparine),
Foie	Source de GAG (héparine) ou d'enzyme (catalase)
Poumons	Contient de l'héparine
Système nerveux	Source de cholestérol
Ovaires	Source de progestérone, d'oestrogènes
Pancréas	Source d'hormones (insuline, glucagon)
Thyroïde	Contient une hormone, la thyroxine, employée comme médicament.
Épiphyse	Source d'hormones de croissance, de mélatonine (employé contre les maladies mentales)
Hypophyse	Source d'hormones
Sérum	Albumine du sérum bovin employée en microbiologie ou en virologie
Peau	Source de gélatine, de collagène, emploi alimentaire.
Estomac	Contient des enzymes (pepsine, rénine) et des protéines
Rate	Usage pharmaceutique (réduction des inflammations, aide à coagulation du sang)
Moelle épinière	Source de cholestérol
Thymus	Employé en alimentaire, utilisé pour augmenter les résistances aux infections, ou pour la croissance et le renforcement osseux

Tableau 1- 17 : Propriétés fonctionnelles et applications de constituants de l'animal (Ockerman et al., 1988)

Nombre de celles-ci sont déjà connues et exploitées dans le domaine de l'agro-alimentaire, mais aussi du non alimentaire, bien que certains usages soient tombés en désuétude du fait de la concurrence avec les produits de synthèse issus des ressources fossiles. Cependant, une demande croissante pour des produits issus de ressources renouvelables est observable dans de nombreux secteurs industriels, tels la production d'énergie (Verhé et al., 2004), les matériaux (Mohanty et al., 2002) et plus généralement dans le secteur de la chimie.

Cette demande a déjà motivé un large regain d'intérêt pour la chimie du végétal (Anastas et al., 2002). Et la stratégie d'élaboration d'une chimie verte à partir des issues de la raffinerie du végétal pourrait s'appliquer de la même façon aux matières premières d'origine animale. Une telle démarche s'appuie sur la connaissance des constituants des matières premières animales, les co-produits de fabrication du jambon dans notre cas, et la mise au point des procédés de fractionnement permettant de les extraire.

1.2.2. Etat des connaissances sur les constituants des co-produits de fabrication du jambon

Les co-produits de fabrication du jambon sont en réalité un assemblage de tissus animaux, dont un exemple de répartition est donné dans le tableau qui suit (Tableau 1- 18), dans le cas d'une cuisse de cochon (femelle adulte) issue de l'opération de découpe pour la fabrication d'un jambon (désossage manuel).

Tissus	Proportion pondérale en % de matière fraîche
Muscle	6 ± 2
Cartilages	15 ± 2
Gras	8 ± 1
Ligaments, tendons	7 ± 1
Os nu	60 ± 3

Tableau 1- 18 : Exemple de répartition en tissus d'une cuisse de cochon déviandée manuellement (CATAR, 2007)

La structure et la composition de ces différents tissus animaux sont décrites dans la littérature (Ockerman et al., 1988; Pearson et al., 1989).

1.2.2.1. Structure et composition de l'os

Les os constituent la fraction majoritaire du co-produit de jambon, ils forment la structure rigide qui sert de support d'ancrage à tous les organes mous (cartilages, tendons, ligaments et muscles), qu'ils soient issus du découpage de la cuisse (jambon cuit) ou du désossage du jambon sec, ces os appartiennent à la catégorie des os longs (Tableau 1- 19).

Type d'os	Caractéristiques	Exemples
Os long	Composés du corps (diaphyse) et des extrémités (épiphyses)	Radius, humérus, fémur
Os court	Comportent de nombreuses surfaces articulaires	Os du carpe, du tarse, phalanges, calcaneum
Os plat	Faible épaisseur	Omoplate, sternum, os du crâne
Os irrégulier	-	Vertèbres
Os pneumatique	Contiennent de l'air	Os du crâne
Os sésamoïde	Situés dans l'épaisseur des tendons	Os de la main ou de la rotule

Tableau 1- 19 : Différents types d'os du squelette de mammifère (Follet, 2002)

Ces os longs sont constitués de plusieurs parties (Dunning, 2002; Follet, 2002) :

- le corps osseux (aussi appelé diaphyse), de forme tubulaire et constituant l'axe longitudinal de l'os long. Le corps est un cylindre épais renfermant un canal médullaire ou une cavité médullaire,
- les extrémités de l'os (également appelées épiphyses),
- la ligne épiphysaire constituant le reliquat de cartilage de conjugaison qui se trouve à la jonction de l'épiphyse et de la diaphyse dans les os jeunes,
- le périoste constituant une membrane double recouvrant la surface externe de la diaphyse. Cette double membrane correspond à une première couche fibreuse composée de tissu conjonctif dense et à une seconde couche interne (ostéogène, site de remodelage et de résorption osseuse), qui repose sur la surface osseuse, comportant surtout des ostéoblastes (synthèse de la partie non minérale de l'os puis minéralisation de cette matrice) et des ostéoclastes (responsables de la résorption, osseuse). Le périoste constitue également le point d'insertion ou d'ancrage des tendons et des ligaments,
- l'endoste, fine membrane de tissu conjonctif, garnissant les surfaces internes de l'os et s'intercalant entre le canal médullaire et l'os compact. Tout comme le périoste, l'endoste contient à la fois des ostéoblastes et des ostéoclastes,
- enfin, aux extrémités, le cartilage articulaire recouvre la partie osseuse de l'épiphyse par laquelle les os longs s'articulent. Ce cartilage amortit la pression pendant les mouvements d'articulation.

Comme tous les os, ils sont ainsi constitués de deux principaux types de tissus osseux :

- l'os compact ou cortical qui est dense, lisse et homogène,
- l'os spongieux ou trabéculaire constitué de petites pièces pointues et plates appelées travées formant un réseau dont les cavités contiennent la moelle.

Ces tissus osseux, vascularisés, composés d'un compartiment cellulaire et d'un compartiment extracellulaire qui prédomine en volume, s'organisent de façon complexe concentrique (Figure 1- 21, a) de la surface extérieure, recouverte par le périoste, vers l'intérieur qui forme le canal médullaire.

- l'os compact, dur et dense, est constitué d'une unité structurale appelée ostéon ou système de Havers, qui a la forme d'un cylindre allongé et orienté selon l'axe longitudinal de l'os. L'ostéon correspond à un ensemble de cylindres creux composés de matrice osseuse et placés les uns dans les autres. Le centre de chaque ostéon forme un canal central, appelé canal de Havers, dans lequel passent de petits vaisseaux sanguins et des fibres desservant les cellules de l'ostéon. L'os compact représente 80 % du poids du squelette chez le mammifère (Encyclopaedia Britannica),

- l'os spongieux, moins structuré, est constitué de travées qui lui confèrent un rôle d'amortisseur. Ces travées ouvertes sur la moelle hématopoïétique, dans laquelle se forment les globules sanguins, comportent des lamelles irrégulières et des ostéocytes reliés entre eux par des canalicules.

Ce tissu osseux a la particularité unique de se renouveler dans des sites distincts grâce à l'action séquentielle et opposée de deux types cellulaires : les ostéoblastes et les ostéoclastes (Figure 1- 21, b,c). Ce processus est hautement régulé au niveau local et permet le renouvellement de la matrice extracellulaire et le maintien de la masse osseuse au cours de la vie adulte, soit 25 % de l'os spongieux et 4 % de l'os compact par an (Follet, 2002).

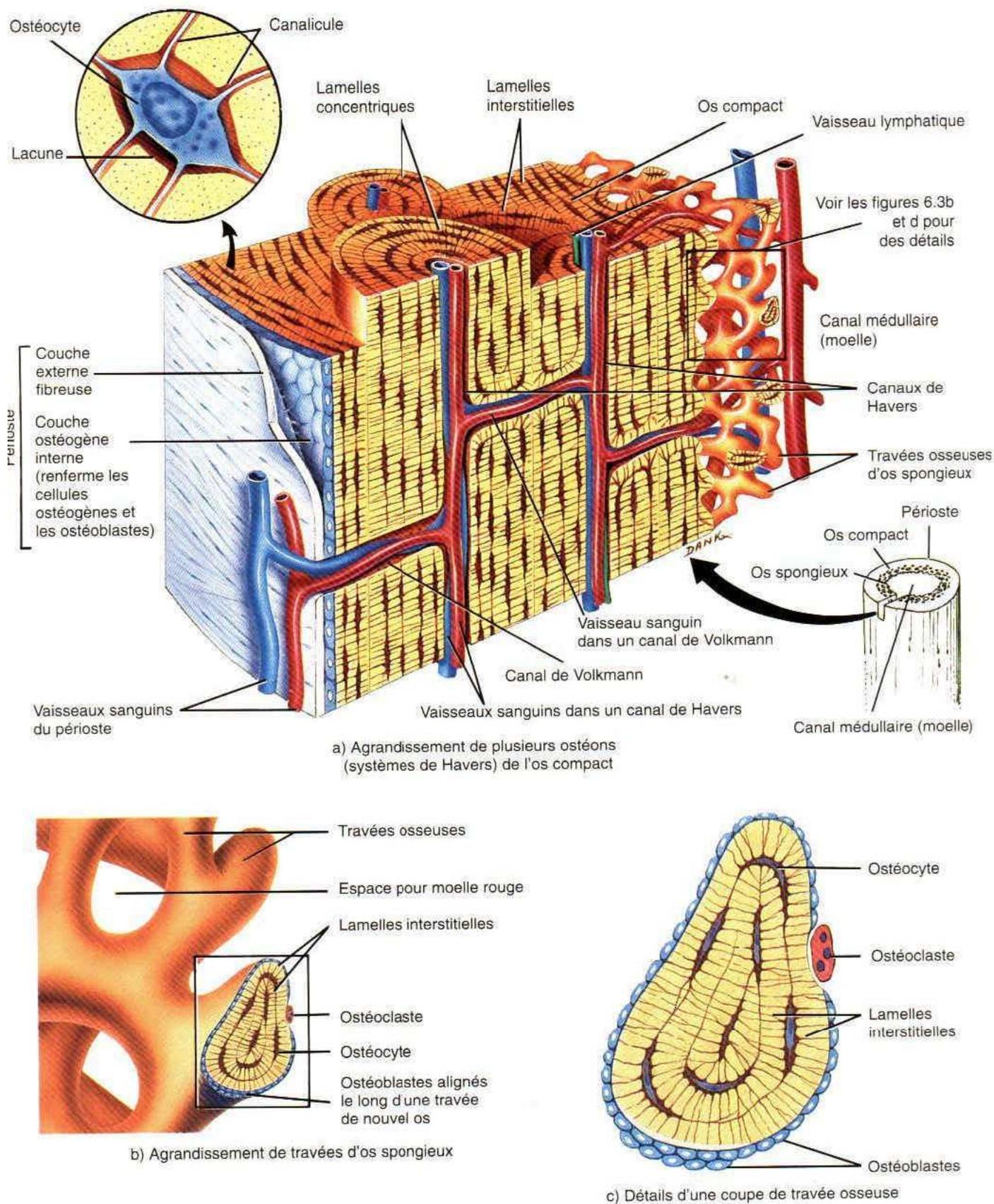


Figure 1- 21 : Coupe d'un os : schéma de l'os compact et de l'os spongieux (Tortora et al., 1994)

La moelle osseuse située à l'intérieur des os spongieux, appelée moelle rouge, est un tissu présentant une fonction hématopoïétique et immunologique. La moelle jaune, qui remplit le canal médullaire de la diaphyse des os longs de l'adulte, résulte de la dégénérescence graisseuse de la moelle rouge (Ellis, 1961).

Globalement, les os sont constitués d'eau, d'une multiplicité de composés organiques parmi lesquels les protéines et les lipides sont les deux majoritaires, et de minéraux, principalement des phosphates de calcium.

- Les constituants organiques sont ceux des cellules de tous les tissus organiques présents et en particulier de l'ostéoïde, qui correspond à la partie organique et représente approximativement 20 % de la matrice osseuse. On y retrouve du collagène, des protéoglycanes et des glycoprotéines. Les triglycérides s'accumulent dans la moelle jaune (Amitrano et al., 2006).

- Les constituants minéraux sont essentiellement les constituants inorganiques de la matrice osseuse. Ce sont des microcristaux d'hydroxyapatites, sels minéraux phosphocalciques arrangés en cristaux, situés entre et autour des fibres de collagène, et qui confèrent à l'os sa dureté.

1.2.2.2. Structure et composition des cartilages, tendons et ligaments

Les cartilages et les ligaments associés, ainsi que les tendons qui attachent les os aux muscles sont des tissus conjonctifs et fibreux qui représentent la seconde fraction la plus importante dans les co-produits du jambon (plus de 20 % de la masse fraîche).

1.2.2.2.1. Les cartilages

Dépourvu de vaisseaux sanguins, de nerfs et de minéraux, le cartilage est un tissu composé principalement de cellules spécialisées appelées chondrocytes, qui produisent des fibres collagéniques et une substance fondamentale amorphe riche en glycosaminoglycanes. La substance fondamentale et les fibres de collagène garantissent à la matrice extracellulaire des propriétés fonctionnelles caractéristiques, comme le glissement des surfaces articulaires sans frictions, la capacité à résister à des forces mécaniques importantes et la capacité à absorber les chocs.

Ces propriétés définissent trois types de cartilages, qui se différencient aussi par leurs caractéristiques morphologiques :

- Le cartilage hyalin est le cartilage le plus répandu, d'apparence bleuâtre, translucide et vitreuse. Il est entouré d'un périchondre, formé d'une couche fibreuse et cartilagineuse contenant des vaisseaux sanguins qui nourrissent le cartilage (Figure 1- 22). On retrouve ce cartilage sur la paroi des voies respiratoires, à l'extrémité ventrale des côtes, dans le cartilage articulaire, le squelette temporaire chez l'embryon et au niveau des plaques de croissance épiphysaire (zone de croissance des os). C'est donc essentiellement ce type de cartilage qui sera présent dans les co-produits de jambon,
- Le cartilage fibreux contient principalement des fibres de collagène mais n'est pas entouré de périchondre, et c'est le tissu conjonctif qui le nourrit. Ce type de cartilage se trouve dans la symphyse, les ménisques articulaires, les disques intervertébraux et aux lieux d'insertion des ligaments et tendons dans l'os. Il sera donc aussi présent dans les co-produits de jambon,
- Il existe un troisième type de cartilage, appelé élastique. Egalement entouré d'un périchondre, il est constitué de fibres élastiques et de collagène. On le trouve dans le pavillon de l'oreille, la trompe d'Eustache, l'épiglotte et les plus petites des bronches, ce qui assure l'élasticité des poumons. Il ne sera à priori pas présent dans les co-produits du jambon.

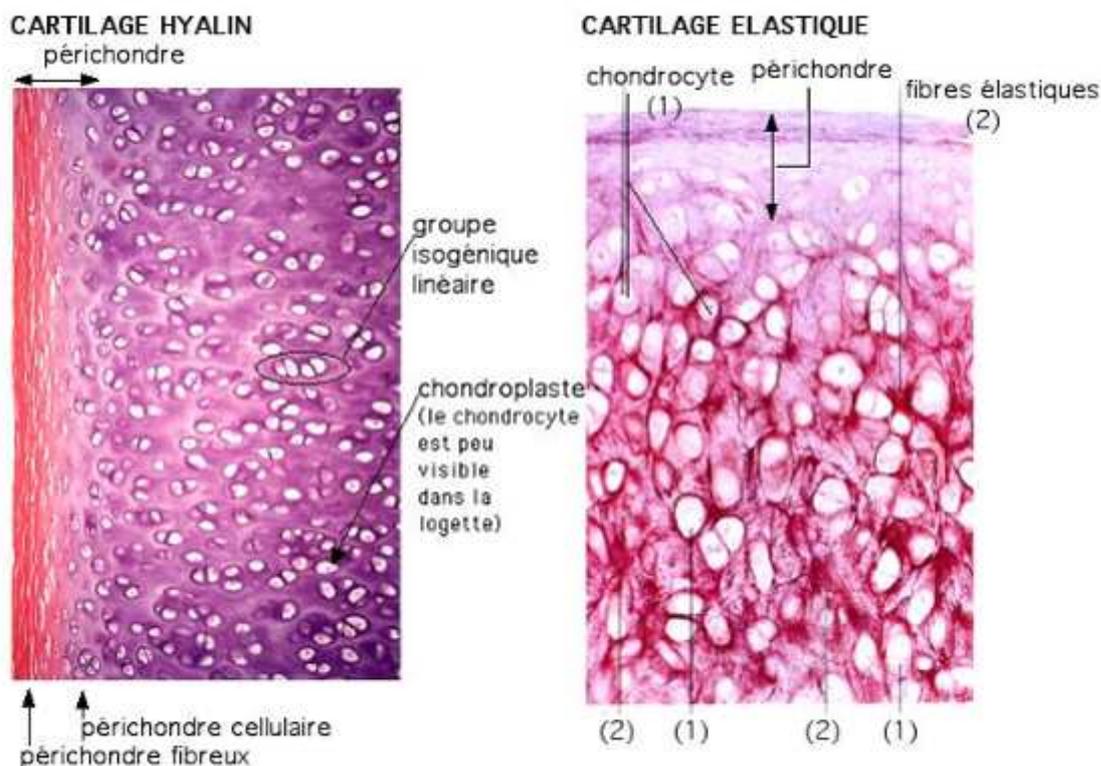


Figure 1- 22 : Structure du cartilage (Poirier et al., 1999)

Dans le cartilage, la matrice extracellulaire est produite par les chondrocytes, riches en glycogène, réserve pour la production d'énergie. Les protéoglycanes liés à des molécules d'acide hyaluronique y forment des agrégats dans lesquels les fibrilles de collagène sont interconnectées, apportant à l'ensemble des propriétés de résistance à la traction. Les protéoglycanes agissent comme des ressorts pour assurer la stabilité et l'élasticité du cartilage. En effet, ils permettent une compression qui expulse l'eau retenue, et une décompression qui absorbe l'eau expulsée (Lüllmann-Rauch, 2008). La qualité de la fonction du cartilage dépend donc des protéoglycanes et de leurs chaînes de GAG, mais aussi de l'organisation des fibrilles de collagène. Ainsi, l'une ou l'autre de ces qualités peuvent dégénérer avec l'âge, ce qui peut provoquer de l'arthrose car le cartilage articulaire n'a pas de périchondre pour régénérer la surface cartilagineuse (Poirier et al., 2006). Le Tableau 1- 20 donne un exemple de composition de cartilage, en particulier de répartition collagène/protéoglycanes.

	Cartilage articulaire		Plaque de croissance épiphysaire	
	% du tissu total	% en matière sèche du tissu	% du tissu total	% en matière sèche du tissu
Cendres	5,8		23,4	
Eau	6,8		7,2	
Collagène	55,1	63,7	39,0	56,2
Chondroïtine sulfate	22,1	25,3	23,5	33,9
Kératane sulfate	3,2	3,7	3,0	4,4
Autres protéines	8,4	9,6	10,2	14,7

Tableau 1- 20 : Composition d'un cartilage articulaire et d'un cartilage de plaque de croissance épiphysaire (Campo et al., 1967)

1.2.2.2.2. *Les tendons et les ligaments*

Le tendon est un tissu conjonctif dense et peu vascularisé, constitué de fibres de collagène organisées en parallèle le long de son axe. Comme tous les tissus conjonctifs, il comprend des cellules, les fibroblastes, et une matrice extracellulaire, elle-même constituée à 70 % d'eau, de collagène (plus de 95 % de la matière sèche du tendon), d'élastine et de substance fondamentale qui contient des acides aminés et des glycoprotéines (Johns, 1977). Le rôle principal du tendon est de résister aux forces exercées par son environnement. Il lie et stabilise les articulations du squelette. Lors de mouvement, le tendon transmet les forces musculaires aux pièces osseuses.

Quant au ligament, c'est également un tissu conjonctif constitué de fibres de collagène densément regroupées, qui assure la liaison d'un os à un autre os au niveau des articulations (Frank 1999). Les ligaments possèdent une membrane plus sombre, un épiligament riche en cellules et vascularisé.

1.2.2.3. Structure et composition des muscles et matières grasses

Les restes de viandes et de gras associés sont la dernière fraction des co-produits du jambon. Minoritaires, elles sont en proportion équivalentes et dépendent largement de la qualité du découpage, de l'âge de l'animal et de sa diète (Lebret et al., 1998; Monziols et al., 2006).

1.2.2.3.1. Les muscles

Chez l'homme comme chez l'ensemble des mammifères, les muscles du squelette représentent environ 30 à 40 % du poids de l'animal (Lawrie, 1979), ces muscles sont encore appelés muscles striés.

Généralement, le muscle squelettique a la forme d'un fuseau dont les extrémités sont fixées à l'os par les tendons. Il est constitué d'un assemblage de faisceaux parallèles (fascicules), contenu dans un tissu conjonctif constitué principalement de collagène (l'endomysium). Chacun des faisceaux est formé de fibres musculaires contenant plusieurs noyaux, disposées parallèlement les unes aux autres. Ces fibres se présentent sous la forme d'un cylindre dont le diamètre est variable (de 10 à 100 μm) et d'une longueur comprise entre 1 et 40 mm (Pearson et al., 1989). Elles sont regroupées par 20 ou 50 et présentent une alternance de bandes sombres et de bandes claires dont la parfaite correspondance au niveau d'une myofibrille à l'autre donne à la fibre un aspect strié transversal. Les myofibrilles sont constituées d'une association de stries claires et foncées constituant le sarcomère (Figure 1-23).

Le muscle contient de l'eau, des protéines, des lipides (le gras), des sucres, des minéraux, des composés organiques et des acides nucléiques, en proportion variable selon le développement de l'animal (Tableau 1- 21) (Dukes, 1943).

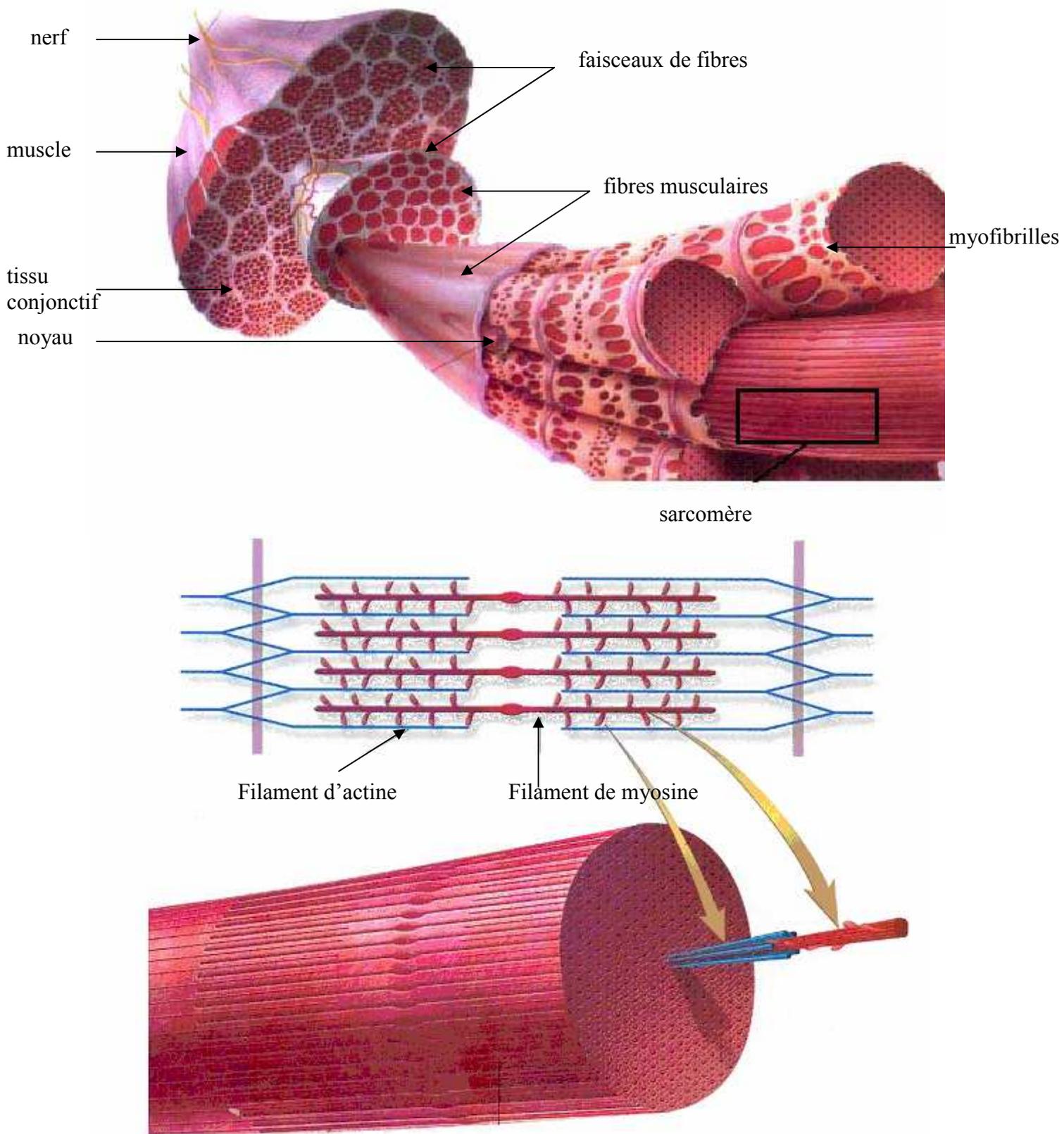


Figure 1- 23 : Représentation schématique du muscle (Cheret, 2005)

Constituant	Type de tissu	Teneur (% de la matière fraîche)	Forme présente	Changements durant la croissance
Eau	Muscle squelettique adulte	70-78	Immobilisée et libre, principalement associée avec des protéines	Abondante dans l'embryon, sa teneur diminue avec l'âge et la teneur en graisses.
Protéines	Muscle squelettique adulte	15-22	Sarcoplasmiques, myofibrillaires, et protéines du tissu conjonctif	La teneur diminue de l'état embryonnaire à adulte et en fonction du taux de gras.
Lipides	Gras total dans le muscle squelettique adulte	1-13	Triglycérides, phospholipides, glycolipides, protéolipides, et gras de dépôt.	Varient fortement. Augmentent durant le développement, inversement proportionnel à la teneur en eau.
Lipides intracellulaires	Intracellulaire dans les cellules du muscle	0,5-3,0	Principalement dans les membranes en tant que glycolipides et protéolipides, ou comme réserve de gras dans le sarcoplasme.	Augmentent progressivement à l'âge adulte. Généralement la teneur est constante.
Sucres	Muscle squelettique adulte	1-2	Glycogène, monosaccharide et autres intermédiaires métaboliques, glycolipides et glycosaminoglycanes	Augmentent progressivement de l'état embryonnaire à l'âge adulte. Généralement la teneur est constante.
Minéraux	Muscle squelettique adulte	1-2	Constituants des fluides extra et intracellulaires, parfois liés aux tissus.	Augmentent avec l'âge jusqu'à maturité.
Vitamines	Muscle squelettique adulte	traces	Largement présents liés à des coenzymes ou des constituants de tissus.	Augmentent de l'état embryonnaire à la naissance ; peut varier en fonction de l'alimentation.
Substances azotées non protéiques	Muscle squelettique adulte	1,5-1,8	Acides aminés libres, créatine, carnosine, anserine, glutathiones et hormones diverses.	Augmentent progressivement de l'état embryonnaire à l'âge adulte, notamment grâce à la baisse de teneur en eau.

Tableau 1- 21 : Composition d'un muscle de mammifère, formes présentes et changements durant le développement (Dukes, 1943).

Dans les co-produits du jambon, ces muscles ne seront présents que sous forme de morceaux, découpés au plus près des tendons et ligaments qui les rattachent à l'os.

1.2.2.3.2. Les matières grasses

Les différents tissus adipeux de la carcasse de porc représentent de 20 à 30 % de la carcasse de porc et ont plusieurs origines. Les matières grasses peuvent être viscérales, sous-cutanées, intermusculaires ou intramusculaires (Monziols et al., 2006). Leur description permet de noter qu'il existe des zones grasseuses « dures » ou « molles » et que leur fonction diffère selon leur localisation (Tableau 1- 22). Ces tissus adipeux permettent le stockage de l'énergie et assurent un équilibre entre les besoins de l'animal et l'apport alimentaire (Lebret et al., 1996).

Tissu adipeux	Appellation	% lipides de la carcasse	Description
Graisses sous-cutanée	Bardière	70	Tissu gras dur de la région du cou, du dos et du rein
	Gorge		Gras dur situé au niveau de la gorge de l'animal, contient également des fibres musculaires
	Poitrine		Gras mou ventral, contient des fibres musculaires
Graisse musculaire	Graisse intermusculaire	20-25	Gras « marbré » déposé entre les muscles
	Graisse intramusculaire	1-2	Gras « persillé » infiltré dans le muscle
Graisse viscérale	Panne	5	Gras mou de rognons (gras périrénal)
	Mésentère (ratis)		Repli graisseux du péritoine

Tableau 1- 22 : Description et localisation des gras de porc (Girard et al., 1988)

Ce sont les gras intra et intermusculaires que nous risquons de retrouver dans la fraction non osseuse de notre co-produit.

*

En conclusion, bien que la matière osseuse y soit nettement majoritaire, les co-produits de la fabrication de jambon sont constitués d'une grande variété de tissus, pourvoyeurs d'une large gamme de structures moléculaires. En fonction des conditions opératoires du fractionnement de ces co-produits plusieurs catégories d'extraits lipidiques, protéiques et minéraux, ainsi que métaboliques pourraient être obtenues.

1.3. Les constituants chimiques des co-produits de la fabrication du jambon

Trois fractions majoritaires pourront être obtenues par extraction : protéique, lipidique et minérale. Chacune d'entre elles pourra provenir des différents constituants (os, cartilages, tendons, ligaments, viandes et gras du co-produit de jambon), et ces fractions seront accompagnées dans l'extrait par de multiples composés minoritaires dont certains peuvent apporter une forte valeur ajoutée.

1.3.1. La fraction protéique

En dehors des protéines métaboliques et membranaires, en proportions minoritaires dans le co-produit de jambon, ce sont les protéines de structure de l'os et de ses constituants associés, ainsi que des restes de muscles qui formeront la fraction protéique du co-produit.

1.3.1.1. Les collagènes, protéines majoritaires des os, cartilages, ligaments et tendons

Les collagènes sont les molécules les plus abondantes de l'organisme où ils représentent 25 % des protéines totales (Bailey et al., 1989). Il existe plusieurs types de collagènes (Tableau 1- 23). A ce jour, 29 collagènes différents ont été recensés (Brown et al., 1995; Söderhäll et al., 2007).

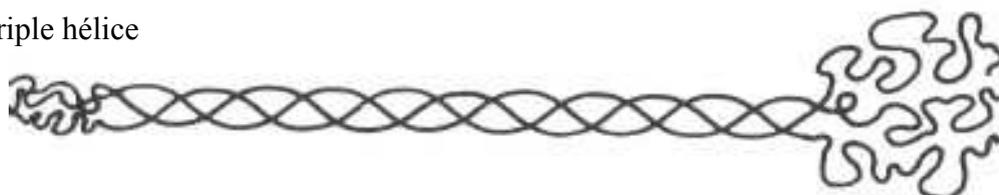
Type	Poids moléculaire (kDA)	Localisation
I	300	Peau, tendon, os, dents
II	300	Cartilage, disques intervertébraux, humeur vitreuse
III	300	Système vasculaire, peau, intestins
IV	420	Membranes basales
V	300	Tissu embryonnaire, peau, système vasculaire
VI	105	Système vasculaire
VII	450	Peau, membrane amniotique
VIII	?	Endothélium aortique
IX	200	Cartilage
X	150	Cartilage
XI	?	Cartilage

Tableau 1- 23 : Poids moléculaire et localisation des types de collagène les plus répandus

Tous les collagènes ont une structure de base similaire, c'est à dire une triple hélice composée de trois chaînes polypeptidiques (Bailey et al., 1989), les chaînes α . Ces chaînes comprennent la répétition d'une séquence d'acides aminés de type Glycine-X-Y où X et Y sont d'autres acides aminés (Buckley et al., 2008; Chu et al., 1984).

Les collagènes de type I sont les protéines les plus abondantes des fibres ; elles forment des fibrilles striées alignées les unes par rapport aux autres (Orgel et al., 2001) (Figure 1- 24). Les différents collagènes se distinguent d'un type à l'autre par la composition en acides aminés de leur chaîne α , mais aussi par la différence entre chacune des trois chaînes polypeptidiques (Alberts et al., 1983).

Triple hélice



Fibrille de collagène

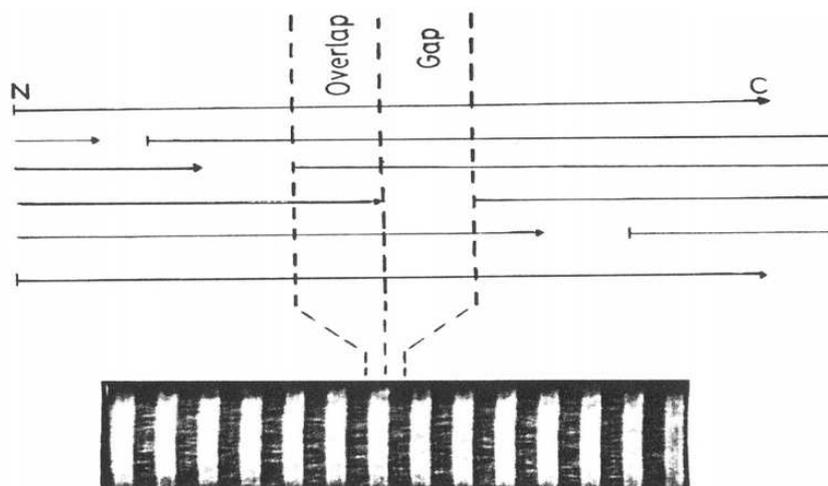


Figure 1- 24 : Représentation des fibres de collagène (Bailey et al., 1989)

Le compartiment extracellulaire minéralisé correspond à la matrice extracellulaire du tissu osseux, essentiellement constituée par du collagène de type I, d'une faible quantité de type V et de traces des types III, XI et XIII (Tableau 1- 23). Les collagènes représentent plus de 90 % de la masse osseuse organique extracellulaire, les 10 % restants étant attribués aux protéines dites non collagéniques, qui représentent approximativement 2 % de la masse osseuse totale (Tableau 1- 24). Cependant, en raison de leur faible teneur et de la difficulté à les extraire du tissu osseux, les protéines non collagéniques sont longtemps restées méconnues. En effet, ces protéines nécessitent l'usage de tampons dénaturants permettant leur purification sans agrégation ni dégradation. L'alternance d'extractions en conditions dissociant le minéral et non dissociantes a permis de préciser la distribution des protéines dans les phases minérales (incluses dans les cristaux d'hydroxyapatite) et organiques (interagissant avec les fibrilles de collagène). L'emploi des conditions dures d'extraction ne permet pas d'assurer le maintien de l'activité biologique et des propriétés physiologiques de ces protéines. Ce n'est que plus tard que les protéines non collagéniques sont étudiées et qu'on leur accorde différents rôles potentiels dans les processus de formation et de résorption osseuse (McKee et al., 1996).

Protéines organiques du tissu osseux	%	Fonctions
Collagène de type I	90	Orienté les forces
Collagène de type V, VIII, XII	<1	Associés au type I, contrôle les fibres de collagène
Ostéocalcine	1,5	Liaison à l'hydroxyapatite
Ostéonectine	2,5	Liaison au calcium
Ostéopontine	0,2	Liaison au calcium et aux cellules
Sialoprotéine	1	Liaison au calcium et aux cellules
Thrombospondine	0,2	Liaison au calcium et à l'ostéonectine
Biglycane	1	Module l'organisation de la matrice
Décorine	0,2	Module la formation des fibres collagène
Facteurs de croissance osseux	<0,2	Régulation entre formation et résorption osseuse

Tableau 1- 24: Composés organiques dans le tissu osseux (Sandberg, 1991)

Les collagènes sont aussi majoritairement présents dans les cartilages, les tendons et les ligaments (Tableau 1- 25).

Tissu	Type de collagène	Proportion %	Remarque	Référence	
Cartilage	hyalin	II, IX, X, XI	39	Possède la plus forte proportion en eau des cartilages, également la plus grande forte proportion en GAG	(Campo et al., 1967)
	fibreux	II, IX, X, XI	55	Le reste de la composition contient des GAG (20 %) et des protéines non collagéniques (12 %) Le cartilage de type XI assure la liaison du cartilage avec les protéoglycanes	(Campo et al., 1967)
Tendon	I (78 %), III (19 %); V, VI	75 (%MS)	Les fibres de collagènes sont parallèles Le tendon contient également des GAG (0,5 %)	(Johns, 1977; Tsuzaki et al., 1993)	
Ligament	I (85 %), III, V, VI, XI et XIV	75 (%MS)	Le reste du ligament est composé de protéoglycanes (<1 %), d'élastine et de glycoprotéines	(Frank, 2004)	

Tableau 1- 25 : Composition en collagène des cartilages, tendon et ligaments

Enfin, le collagène est aussi présent dans le tissu conjonctif des muscles, où il est associé à d'autres types de protéines. D'ailleurs, le taux de collagène, sa solubilité, et son rapport avec la tendreté de la viande ont fait l'objet de plusieurs études (Hill, 1966; Shimokomaki et al., 1972). Ainsi, la glycine, la proline et l'hydroxyproline sont les acides aminés les plus abondants des collagènes (Tableau 1- 26) en comparaison avec d'autres

protéines musculaires, et l'hydroxyproline en est un marqueur spécifique. Son dosage permet de déterminer le taux de collagène dans un muscle (Johns, 1977; Neuman et al., 1950).

Acide aminé	Type I*		Type III*	Type IV*		Type V*		Elastine (aorte de porc)**	Myosine porcine (muscle antérieur)***	Actine****
	$\alpha 1$	$\alpha 2$	$\alpha 1$	$\alpha 1$	$\alpha 2$	$\alpha 1$	$\alpha 2$			
Lys	31	23	30	5	6	18	19	5	125	52
His	2	11	6	6	8	10	7	1	18	19
Arg	51	53	47	20	45	57	48	8	55	38
Asp	43	46	43	48	52	55	51	6	95	82
Thr	17	19	13	18	28	27	22	15	55	59
Ser	39	36	39	34	26	34	26	12	43	56
Glu	74	69	72	77	62	90	99	19	177	101
Hyp	102	87	127	146	127	107	108	9	-	-
Pro	139	123	109	79	69	92	119	113	24	44
Gly	352	350	354	318	313	318	320	313	46	67
Ala	121	113	97	31	49	59	46	244	79	71
Val	21	34	14	30	24	30	29	128	47	42
Ile	7	15	13	34	42	18	20	18	49	57
Leu	21	33	22	54	59	37	40	54	101	63
Tyr	2	4	3	5	6	-	1	19	19	32
Phe	13	12	8	24	37	12	12	33	33	29
Cys	-	-	2	-	-	-	-	<1	7	11
Met	7	5	8	15	12	7	7	<1	25	30
Ide	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Des	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-

* (Bailey et al., 1989)

** (Pearson et al., 1989)

*** (Bodwell et al., 1971)

**** (Kominz et al., 1954)

Tableau 1- 26 : Composition en acides aminés des chaînes α des principaux types de collagène et des protéines myofibrillaires (valeurs exprimées en résidus/1000)

1.3.1.2. Les protéines du muscle

Dans le muscle (Tableau 1- 27), les protéines représentent la majeure partie de la matière sèche.

Composant	Quantité (% du poids humide)
Eau	75,0
Protéines	19,0
Sarcoplasmiques	5,5
Myofibrillaires	11,5
Du tissu conjonctif	2,0
Lipides (gras)	2,5
Sucres et acide lactique	1,2
Substances solubles non protéiques	2,3
Substances azotées	1,6
Minéraux	0,85
Phosphore total soluble	0,20
Potassium	0,35
Sodium	0,05
Magnésium	0,02
Calcium, zinc, traces de métaux	0,23
Vitamines	Traces

Tableau 1- 27 : Composition chimique typique d'un muscle de mammifère

Les protéines du muscle strié sont divisées en trois groupes principaux (Lawrie, 1979) :

a) Les protéines sarcoplasmiques

Les protéines sarcoplasmiques représentent entre 25 et 35 % des protéines totales du muscle. Localisées dans le sarcoplasme, elles sont solubles dans l'eau ou dans une solution saline. Il existe plus d'une centaine de protéines sarcoplasmiques différentes, dont les enzymes impliquées dans le métabolisme (Pearson et al., 1989).

b) Les protéines myofibrillaires

Les protéines myofibrillaires, majoritaires, comprennent les protéines responsables de la contraction musculaire ; elles se distinguent en trois classes, les protéines de contraction, de régulation, et les protéines du cytosquelette (Tableau 1- 28).

Protéine	% du total des protéines myofibrillaires	Localisation	Poids moléculaire (kDa)
Protéines de contraction			
Myosine	50	Bande A, filament épais	500
Actine	20	Filament fin	42
Protéines de régulation			
Tropomyosine	3	Filament fin	68
Troponine	4,5	Filament fin	78
α -Actinine	1	Strie Z	201
β -Actinine	<0,01	Bande A, fin du filament mince	71
γ -Actinine	<0,01	Filament fin	35
Eu-actinine	0,3	Strie Z	42
Protéines du cytosquelette			
Titine (Connectine)	5-8	Tout le sarcomère	2800
Nébuline	3	Bande I	500
Protéine C	1,5	Filament épais	121
Protéine M (myoméline)	0,5	Strie M (centre de la bande A)	165
Desmine (skeletaline)	<0,2	Strie Z	55
Filamine	0,1	Strie Z	480
Vimentine	0,1	Strie Z	57
Synémine	0,1	Strie Z	220
Protéine X	0,2	Strie Z	152
Protéine I	0,1	Filament épais (sauf au centre)	50
Protéine F	0,1	Filament épais	121
Créatine kinase	0,1	Strie M	74

Tableau 1- 28 : Répartition relative des protéines myofibrillaires du sarcomère (Pearson et al., 1989)

L'observation d'une myofibrille permet de distinguer des bandes claires et des bandes sombres, qui sont dues à la présence de deux types de filaments (Figure 1- 25) :

— Les filaments minces, constitués d'actine, sont traversés en leur milieu par la ligne Z (Zwischen qui signifie 'entre' en allemand) qui assure la liaison avec les sarcomères adjacents. Ainsi, un filament d'actine appartient à deux sarcomères différents. La bande I (comme isotrope), se situe à l'endroit où le sarcomère ne contient que des filaments minces. Le diamètre des filaments minces varie de 5 à 8 nm.

— Les filaments épais, dont le diamètre varie de 14 à 18 nm, sont constitués de myosine principalement. Ces filaments définissent la bande A (comme anisotrope). Les protéines C, H et X, en quantité minoritaire, se situent à la surface des filaments de myosine. Au centre de la bande A se trouve la zone H (Heller qui signifie 'plus pâle' en allemand) qui ne contient que des filaments de myosine. La ligne M (de Mittel, 'centre' en allemand), correspond à l'épaississement des filaments épais par des filaments transversaux qui assurent le maintien des sarcomères au niveau de la zone H.

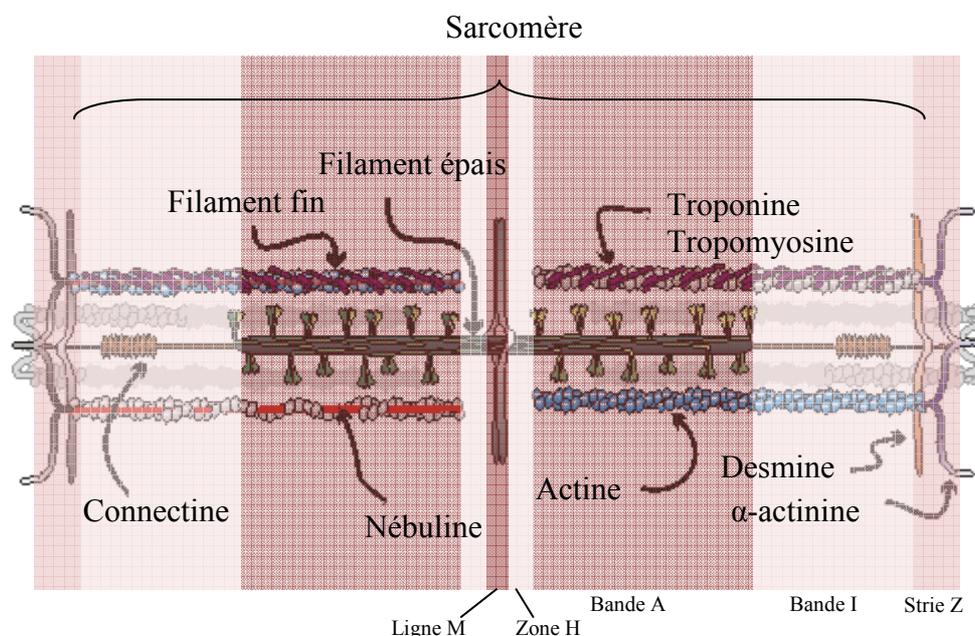


Figure 1- 25 : Principaux constituants du sarcomère (Cheret, 2005)

c) Protéines du tissu conjonctif

Les protéines du tissu conjonctif, minoritaires, ont un rôle de soutien. Elles jouent également un rôle de support du système musculaire avec les os, dents, ligaments et tendons ; ainsi qu'un rôle de protection pour les organes vitaux et de stockage d'énergie en créant un réseau avec le tissu adipeux (Robelin et al., 1990). Elles sont classifiées comme des protéines fibreuses, car elles forment des chaînes polypeptidiques parallèles les unes aux autres

(Pearson et al., 1989). Ces protéines fibreuses sont insolubles dans l'eau ou dans une solution saline. Les principales protéines de ce groupe sont le collagène et l'élastine.

L'élastine est la protéine majoritaire des fibres élastiques qui leur confère des propriétés de souplesse et d'étirement (peau, poumon, aorte, ligaments, etc.). La teneur en élastine dépend du muscle (Fung, 1993) et de sa fonction, mais sa structure est toujours faite de chaînes enroulées, contrairement au collagène, responsable de ses propriétés élastiques. Elle est constituée de deux types de fibres (Rowe, 1986), dites épaisses, d'un diamètre de 5 à 10 µm, parallèles aux cellules musculaires, et dites fines, d'un diamètre de 1 à 2 µm, alignées sur les fibres de collagène. Ainsi, l'élastine contribue à la cohésion des myofibrilles (Totland et al., 1988). C'est une protéine fortement hydrophobe et insoluble (Mithieux et al., 2005), dont les acides aminés les plus représentatifs sont la glycine, la proline et l'alanine (Gosline et al., 1985). L'élastine contient également deux acides aminés inhabituels, qui sont la desmosine et l'isodesmosine, formés par la liaison de quatre chaînes de lysine (Pearson et al., 1989).

Les autres protéines sont liées à des sucres pour former des glycoprotéines, constituants du fluide synovial qui sert de lubrifiant avec les glycosaminoglycanes.

1.3.2. La fraction matières grasses

En dehors des lipides minoritaires (phospholipides membranaires, lipoprotéines, stérols, etc.), la fraction matière grasse des co-produits du jambon provient d'une part des tissus adipeux associés aux muscles (Gandemer, 2002), et d'autre part de la moelle des os (Goodman, 1952). Le gras de porc comme la moelle sont constitués à plus de 90 % de triglycérides (Wood et al., 2008) dont les caractéristiques physicochimiques et la composition en acides gras sont différentes (Tableau 1- 29).

Source lipidique	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2 ω6	18:3 ω3	20:1
Gras de porc sous-cutané (carcasse entière)	1,3	23,8	2,7	13,5	41,2	10,2	1,0	1,0
Gras de jambon sous-cutané	1,3	25,0	2,2	13,9	43,9	12,6	1,0	-
Gras de jambon intermusculaire	1,3	25,5	2,6	14,2	42,0	13,3	1,1	-
Gras de poitrine sous-cutané	1,3	25,3	2,5	13,3	43,2	13,3	1,1	-
Gras de poitrine intermusculaire	1,3	26,9	2,3	16,1	42,0	11,8	1,0	-
Moelle osseuse humaine		18,6	3,1	5,2	46,4	19,3	0,7	0,9
Suif bovin	3,7	24,9	4,2	18,9	36,0	3,1	0,6	0,3
Gras de volaille	0,9	21,6	5,7	6,0	37,3	19,5	1,0	0,1

Tableau 1- 29 : Profils moyens d'acides gras d'origine animale (% d'acides gras totaux) (Monziols et al., 2007; Pearl et al., 2004; Yeung et al., 2008)

En particulier, bien que toutes deux majoritairement constituée d'acide oléique (C18 :1=49 et 41 %) et d'acide palmitique (C16 :0 = 19 et 24 %), les proportions d'acide stéarique (C18 :0=5 et 13,5 %) et d'acide linoléique (C18 :2=19 et 10 %) sont inversées dans la moelle et dans le gras sous cutané ou intermusculaire, se traduisant par un caractère plus insaturé des graisses de moelle. Dans la moelle, 35 % de la graisse est solide à 10 °C, 20 % à 20 °C, et elle est totalement liquide à partir de 40 °C (Karleskind et al., 1996), comme d'ailleurs le gras des tissus adipeux.

Le gras de la moelle situé à l'intérieur de l'os est la principale matière grasse de l'os. La moelle contient 96 % de lipides par rapport à sa matière sèche, ce qui en fait le tissu le plus riche en gras. Industriellement, les plus gros volumes de gras osseux proviennent du bétail et des porcs, dont l'os est utilisé pour la fabrication de gélatine (Karleskind et al., 1996).

Les différences de proportions des acides gras des fractions lipidiques composant les co-produits de jambon pourraient se traduire par des différences de certaines caractéristiques physico-chimiques. Ainsi, les principales caractéristiques du gras osseux et du saindoux sont données dans le Tableau 1- 30.

Caractéristique	Gras osseux	Saindoux
Densité à 80 °C	0,875-0,877	-
Densité à 60 °C	0,884-0,887	0,917-0,938
Volume à 60 °C	20-22	13
Point de fusion (°C)	39-41	36-45
Indice d'iode	52-55	45-75
Indice de saponification	192-200	190-205
Fraction insaponifiable (%)	0,2-0,3	0,8
Indice d'acide (%)	1-6	3-4

Tableau 1- 30 : Caractéristiques physiques et chimiques du gras osseux et du saindoux (Karleskind et al., 1996; Ockerman, 1991)

1.3.3. La fraction minérale

Globalement, le corps d'un mammifère entier comprend environ 2 % d'éléments inorganiques (Pearson et al., 1989) dont la majeure partie provient des os et des dents (Tableau 1- 31). Dans l'os, il s'agit essentiellement, dans la matrice extracellulaire, de microcristaux d'hydroxyapatite (70 % de la matrice) qui sont des phosphates de calcium $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ (Wopenka et al., 2005).

D'autres éléments minéraux seront aussi présents en très faible proportion dans les co-produits de jambon, liés à leurs fonctions métaboliques, osmotique et catalytiques, en particulier en provenance des morceaux de tissus musculaires et des cartilages, tendons et ligaments (Tableau 1- 31).

Tissu	Ca	Mg	K	Na	P	Cl	S	Fe	Zn	Cu	Mn
Corps entier (mammifère)	2,0	0,05	0,35	0,15	1,1	0,15	0,25	0,004	0,002	0,00015	0,00013
Os*	20,2	0,10			8,6		0,10				
Dents*	29,7	0,42			14,2						
Muscle squelettique	0,008	0,028	0,244	0,168	0,214	0,048		0,005	0,006		
Muscle non strié	0,031	0,004	0,064	0,267	0,081	0,171		0,008			
Tendons d'achille	0,23	0,028		0,012	0,05		0,23	0,004	0,008		
Ligament de la tête du fémur	0,33	0,047		0,002	0,05		0,34	0,011	0,0002		
Ligament croisé antérieur	0,36	0,047		0,004	0,07		0,28	0,002	0,0001		
Cartilage	0,33	0,026		0,006	0,08		0,19	0,012	0,006		

*sur matière sèche

Tableau 1- 31 : Répartition des minéraux dans les différents tissus mammifères (en % de constituants inorganiques dans les tissus) (Azuma et al., 2005; Kumai et al., 2006; Pearson et al., 1989)

1.3.4. La fraction protéoglycane

Les protéoglycanes sont des structures macromoléculaires hydrophiles que l'on retrouve dans les systèmes de soutien du tissu animal. Ils se situent dans les tissus conjonctifs, les tissus cartilagineux, les ligaments ou encore la paroi des vaisseaux (Gallot et al., 1999), et sont donc présents dans le co-produits de jambon. Ils y assurent un rôle dans de nombreux processus tels que la prolifération, le remodelage des matrices et la migration (Iozzo, 1998).

Les protéoglycanes se présentent sous forme d'agrégats (Figure 1- 26) dans lesquels un axe protéique, appelé core, est associé par liaison covalente à des polysaccharides, les glycosaminoglycanes (Ruoslahti, 1988). Les noyaux protéiques sont de natures différentes et sont classifiés en fonction de leur taille (Scott, 1988).

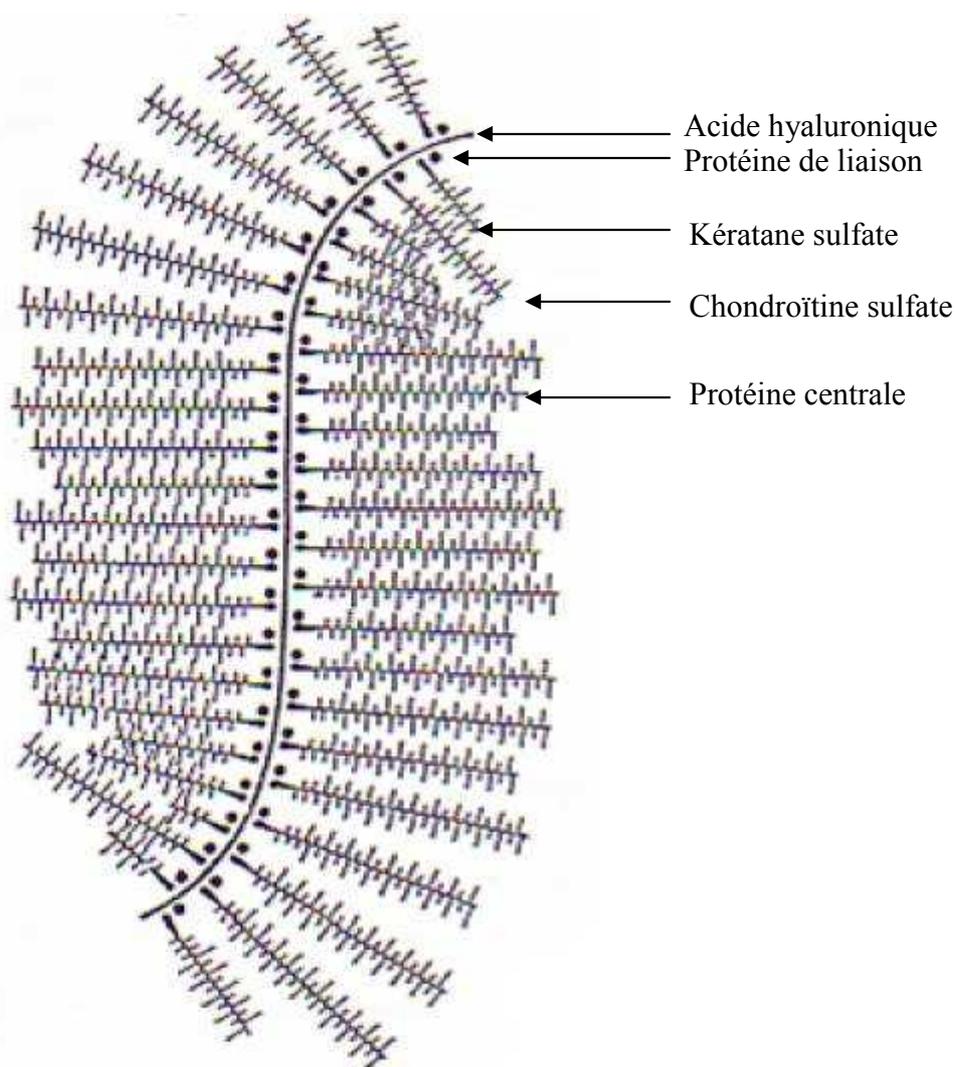
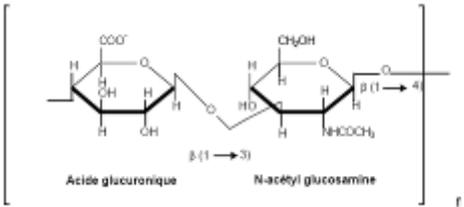
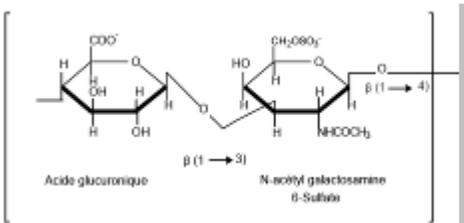
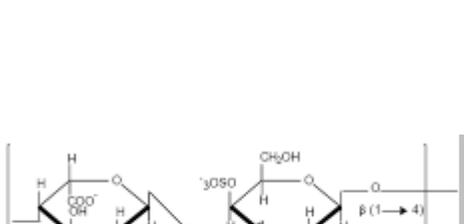
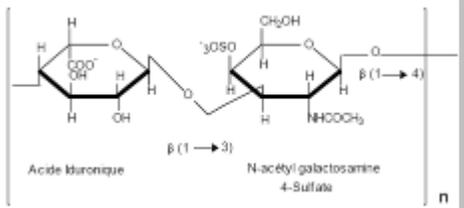


Figure 1- 26 : Représentation schématique d'un agrégat de protéoglycane (Rodén, 1980)

Par contre, les glycosaminoglycane, autrement appelés mucopolysaccharides sont mieux décrits. Ils sont formés d'une répétition d'un motif disaccharidique pour former une chaîne non ramifiée. Le nombre de GAG rattachés au protéoglycane peut varier de un à plus de cent (Alberts et al., 1983; Ruoslahti, 1988; Scott, 1988), et l'hétérogénéité de ces chaînes polysaccharidiques se traduit par un très large éventail de combinaisons. La plupart des protéines extracellulaires, comme les collagènes, les fibronectines [glycoprotéines qui interviennent dans la structure de la matrice extracellulaire, dans les interactions cellules/matrice, et impliquées dans la réparation tissulaires) (Di Costanzo-Dufetel et al., 1992)], et les facteurs de croissance, sont des sites récepteurs pour les GAG. Les GAG sont également rétenteurs d'eau du fait de leur poids moléculaire (Ruoslahti, 1988). Ainsi, une matrice riche en GAG peut retenir une grande quantité d'eau. Dans le muscle en général,

l'eau est retenue dans les myofibrilles entre l'actine et la myosine, ce qui détermine la capacité de rétention d'eau du muscle entier (Lawrie, 1998).

La classification se fait selon la nature des oses dont les disaccharides sont formés et les GAG peuvent se distinguer en plusieurs familles (Tableau 1- 32) : l'acide hyaluronique, la chondroïtine sulfate et la dermatane sulfate, l'héparine et l'héparane sulfate et enfin la kératane sulfate. D'une manière générale, les disaccharides sont composés d'un acide hexuronique (acide glucuronique ou acide iduronique), excepté la kératane sulfate, et d'une hexosamine (glucosamine ou galactosamine).

Glycosaminoglycane	Motif	Poids moléculaire (Da)	Disaccharide répétitif (A-B) _n		Distribution tissulaire	Remarques	Références
			Monosaccharide A	Monosaccharide B			
Ac. Hyaluronique (non sulfaté)		4000-8.10 ⁶	Ac. glucuronique	N-acétyl glucosamine	Tissus conjonctifs, peau, corps vitré, cartilage, liquide synovial	- absence de fonction sulfate - masse moléculaire très importante - non relié à un protéoglycane.	-
Chondroïtine 4-sulfate		5000-50000	Ac. glucuronique	N-acétyl galactosamine	Cartilage, cornée, os, peau, artères	- famille très présente en milieu marin	-
Chondroïtine 6-sulfate		5000-50000	Ac. glucuronique	N-acétyl galactosamine	Cornée, peau, os, artères	- famille très présente en milieu marin	-
Dermatane sulfate		15000-40000	Ac. glucuronique	N-acétyl galactosamine	Peau, vaisseaux sanguins, cœur, valvules cardiaques	- structure hybride de la chondroïtine sulfate	-

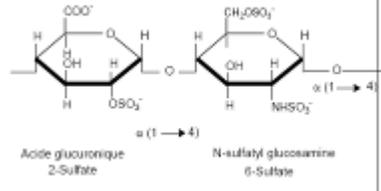
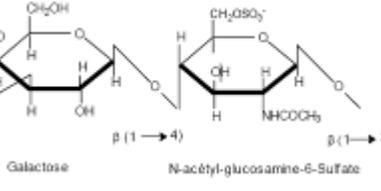
Héparane sulfate	 <p>Acide glucuronique 2-Sulfate N-sulfatyl glucosamine 6-Sulfate</p>	5000-12000	Ac. glucuronique	N-acétyl glucosamine	Poumon, artères, surfaces cellulaires	- appartient à la famille de GAG les plus sulfatés	(Rabenstein, 2002)
Héparine		6000-25000	Ac. glucuronique	N-acétyl glucosamine	Poumon, foie, peau, mastocytes	- appartient à la famille de GAG les plus sulfatés - effet anti-coagulant	(McLean, J, 1916)
Kératane sulfate	 <p>Galactose N-acétyl-glucosamine-6-Sulfate</p>	4000-19000	Galactose	N-acétyl glucosamine	Cartilage, cornée, disque intervertébral	- galactose à la place de l'acide uronique - absence dans les tissus cutanés - les différences de kératane résident dans leur liaison avec la protéine du protéoglycane (asparagine, sérine ou thréonine)	(Funderburgh, 2000; Krusius et al., 1986; Suzuki, 1939)

Tableau 1- 32 : Structure et caractéristiques des glycosaminoglycanes (Alberts et al., 1983)

1.3.5. Les autres fractions minoritaires

Outre les fractions hydrates de carbone (Tableau 1- 33) et vitamines (Tableau 1- 34) susceptibles d'être présentes dans les co-produits de jambon, la fraction composés aromatiques a été étudiée en particulier comme appétant dans les aliments. Plusieurs études (Toldra et al., 1998; Toldra et al., 2004) ont ainsi mis en évidence des familles de composés aromatiques présents dans les jambons secs, comme les aldéhydes, les cétones, les alcools et les esters.

Sucres et acide lactique	Teneurs (% muscle)	Fonction
Acide lactique	0,90	Responsable des changements de pH, qui dans le muscle vivant varie de 5,2 à 7,2
Glucose 6-phosphate	0,15	Métabolite de la glycolyse
Glycogène	0,10	Réserve énergétique
Glucose	0,05	
TOTAL	1,20	

Tableau 1- 33 : Composition en sucre et en acide lactique d'un muscle de mammifère adulte

Vitamines	Rôles	Remarques
A et D	Solubles dans les lipides	Rôle hormonal, maintien des tissus épithéliaux contrôle de dépôt des minéraux, sur l'os
K		Coagulation du sang, prévention des maladies hémorragiques
E		Prévention de l'oxydation des tissus
C	Solubles dans l'eau	Notamment dans la prévention du scorbut
B		Rôle dans différents systèmes enzymatiques
		Surtout thiamine (B1), riboflavine (B2) et niacine (B3) (Pearson et al., 1989)

Tableau 1- 34 : Composition en vitamines dans le muscle

De façon générale, les réactions de dégradation par voies enzymatiques des protéines (protéolyse) et des lipides (lipolyse) contribuent au développement des arômes du jambon lors de la maturation et du séchage (Figure 1- 27).

Le processus de protéolyse peut varier selon le procédé de fabrication du jambon, mais suit généralement les mêmes étapes (Toldra et al., 1998). Les protéines myofibrillaires et sarcoplasmiques sont clivées par des endopeptidases musculaires, les cathepsines (B, H et D) et les calpaïnes (μ et m), pour former des polypeptides de taille intermédiaires (2700 à

4500 Da). Ces peptides sont hydrolysés par des exopeptidases musculaires (aminopeptidases et di- ou tri-peptidylpeptidases). Il en résulte des peptides de plus faible poids moléculaire (1200 Da) et des acides aminés libres qui participent aux réactions de Maillard et de Strecker. Les composés générés sont soit des composés non volatils responsables de la texture du jambon, soit des composés volatils qui contribuent à la fraction aromatique. Les ingrédients utilisés pour la fabrication, lors du séchage du jambon, comme le sel, ont un effet sur ces dégradations enzymatiques. Les cathepsines et les aminopeptidases sont inhibées par le sel et ralentissent la protéolyse (Flores et al., 2007).

Le processus de lipolyse peut être considéré comme un ensemble de réactions enzymatiques qui affectent les triglycérides et les phospholipides (Toldra et al., 1997). L'hydrolyse des triglycérides et des phospholipides, respectivement par des lipases (lipase acide et neutre) et par des phospholipases (phospholipase acide), génèrent des acides gras libres. Ces acides gras sont sensibles à l'oxydation, favorisée par la présence de sel. Il en résulte des peroxydes qui vont, par des réactions secondaires et des interactions avec les peptides, générer des composés volatils à l'origine d'arômes. Un aldéhyde comme l'hexanal, par exemple, est responsable d'un arôme d'herbe fraîche ou de graisse, les esters apportent un arôme fruité (ethyl butanoate), ou de viande cuite (ethyl hexanoate) (Calkins et al., 2007; Toldra et al., 1998).

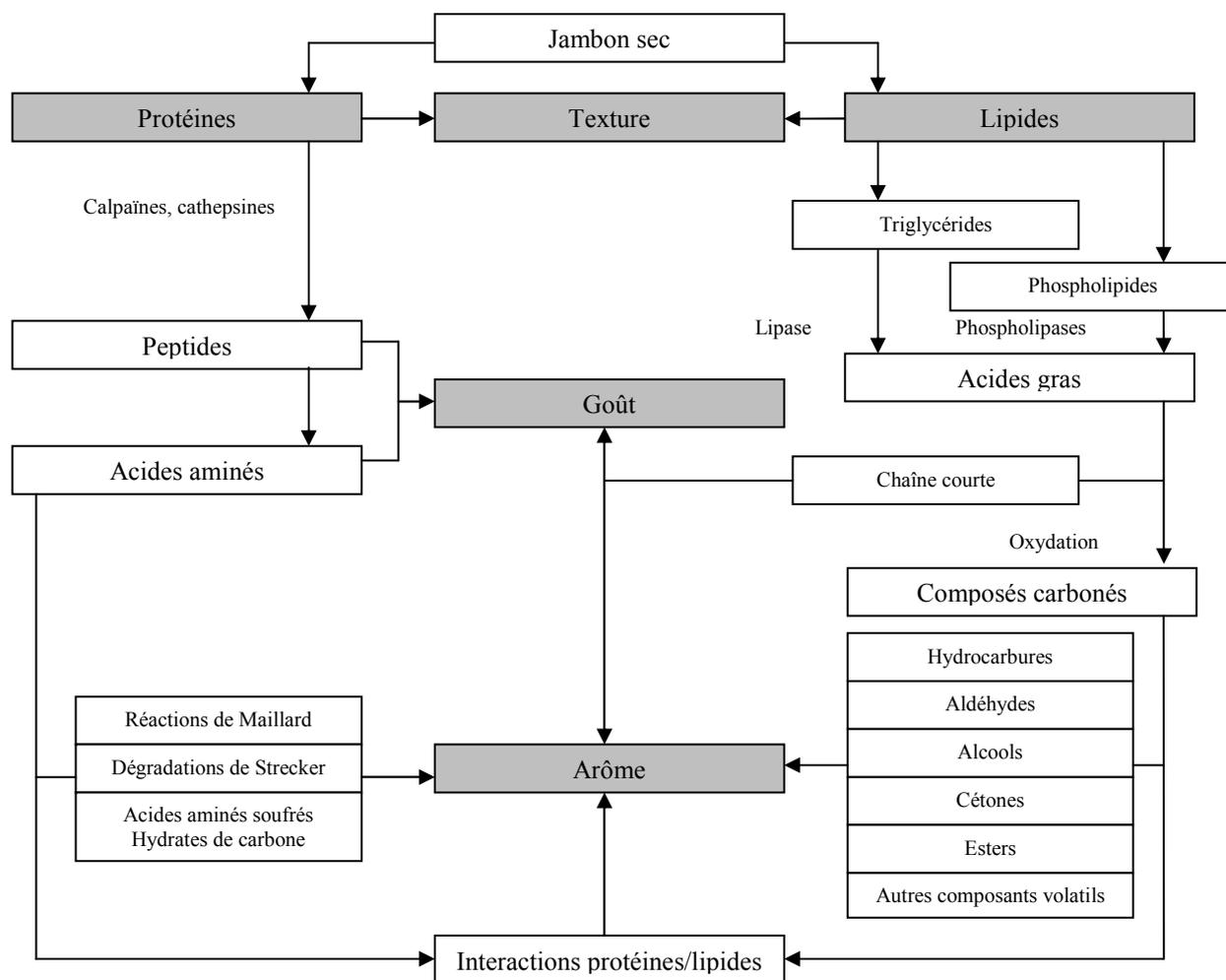


Figure 1- 27 : Schéma général de génération des arômes pendant le processus de maturation du jambon sec (Toldra et al., 1998)

1.4. Conclusion

Dans la grande filière de transformation des productions animales en produits carnés pour l'alimentation humaine, l'industrie de la production de viandes et charcuteries de porc occupe une place très importante : le porc est l'animal le plus consommé au monde et l'industrie charcutière a su rationaliser et intensifier la production d'une grande variété de produits adaptés aux traditions culinaires régionales et aux modes modernes de consommation alimentaire, modèle repris par d'autres filières comme la charcuterie à base de volaille. La fabrication de jambons, avec sa déclinaison en jambon sec, en est un exemple phare.

Comme l'ensemble de la filière de transformation animale, la filière industrielle de la transformation du porc, de l'abattage aux 60 % du poids des animaux en produits et co-produits pour l'alimentation humaine, génère près de 40 % de co-produits non comestibles. Leur valorisation, toujours impérative au regard de l'impact environnemental de ces sous-produits périssables, en particulier lors des étapes d'abattage et de préparation des carcasses et viandes, est aussi devenu un enjeu stratégique pour l'équilibre économique de la filière. Globalement, la valorisation des sous-produits a donné lieu au développement d'une activité industrielle en aval de production de protéines animales transformées (PAT) et de matières grasses pour des applications principalement dans le secteur des aliments pour animaux de compagnie (Pet Food), pour animaux d'élevage (farines animales) et de la chimie (savonnerie), auxquels il faut ajouter celui des fertilisants et celui très spécifique de la gélatine, alimentaire et technique, mais qui ne représente qu'une très faible part des débouchés (Tableau 1- 35).

Secteur	PAT	MG 10 ³ t	Total	Répartition
				(%)
Pet Food	292	52,5	344,5	44
Alimentation animale	36	80,5	116,5	15
Oléochimie		192	192	24
Fertilisants	89,5		89,5	11
Gélatine	18		18,	2
Energie	1,8	6	7,8	1
Autres		19,5	19,5	3

Tableau 1- 35 : Répartition des débouchés des co-produits de transformation des produits carnés par secteurs d'application

Toutes ces applications nécessitent le fractionnement des sous-produits, essentiellement en fraction protéique plus ou moins riche en minéraux d'origine osseuse, et en matières grasses, selon une grande variété de procédés adaptés à la nature des sous-produits, et faisant appel à des opérations de broyage, de cuisson et de pressage à haute température comme dans le cas des farines animales, ou d'extraction et de séparation liquide/solide par l'eau ou les solvants. Au-delà des procédés de fabrication de gélatine à partir de sous-produits sélectionnés et de graisses, des procédés couplent une hydrolyse enzymatique des protéines à l'extraction et la séparation des collagènes hydrolysés.

Mais bien que dans certains cas la valeur apportée par les protéines animales transformées ou par des extraits spécifiques puisse être relativement élevée, la plupart des procédés reposent sur un coût de matière première minimum, d'autant plus qu'elle doit être collectée (coût de transport) conditionnée et stockée à froid (coût en énergie) pour contrôler son évolution.

C'est dans ce contexte que se situent nos travaux sur la valorisation des co-produits de la fabrication de jambon. A l'échelle d'une entreprise de transformation charcutière comme celle du site d'Aoste, spécialisée en particulier dans la production de jambon sec et de saucisson, l'enlèvement des co-produits, qui représentent 9 000 t/an essentiellement constitués par des os frais issus de la découpe des carcasses et des os issus de l'opération de désossage des jambons sec, se fait aujourd'hui à coût nul (Figure 1- 28) sans aucune valeur ajoutée, bien que ces co-produits soient classables dans la catégorie 3, c'est-à-dire sans risques pour la santé et l'environnement.

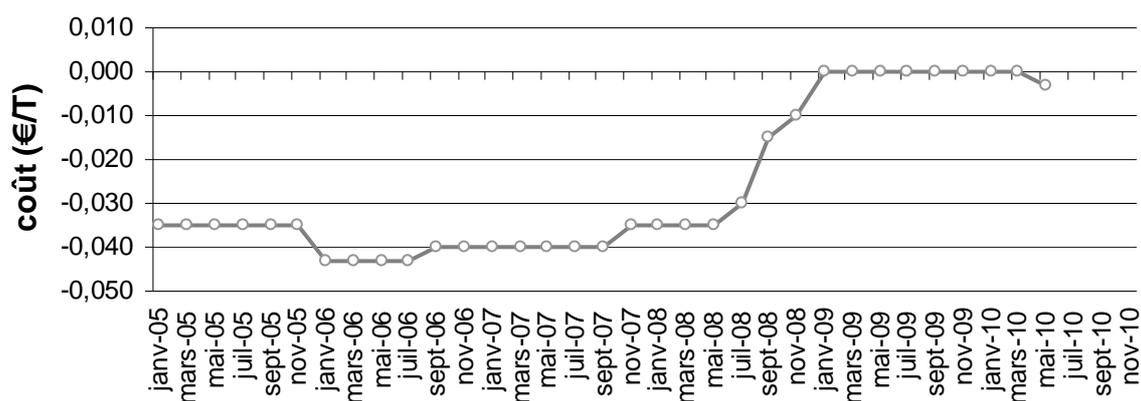


Figure 1- 28 : Evolution des coûts d'enlèvement des co-produits de la fabrication de jambon et de saucissons (Aoste)

On conçoit donc l'intérêt apporté à la mise au point d'un procédé de fractionnement, en ligne avec la production des sous produits, qui en stabilisant ces matières premières périssables en fraction définies, apporterait une nouvelle valeur ajoutée et diversifierait leurs débouchés. Au niveau d'un groupe comme Campofrio Foodgroup, cette démarche s'inscrit dans la perspective du développement durable, à travers la meilleure exploitation d'une ressource renouvelable, la production de produits biosourcés et la minimisation de l'impact environnemental des transformations industrielles.

Compte tenu de la plus grande variabilité des co-produits issus de l'opération de découpe des carcasses fraîches (origine, taille et parties de l'animal), nous nous sommes

focalisé pour notre étude sur le co-produit issu du désossage de jambon séché correspondant à une issue d'un atelier spécialisé, à partir de parties de carcasses sélectionnées, et stabilisé par le traitement de fabrication du jambon (salage, maturation et séchage).

Une première analyse de la répartition des tissus animaux présents dans ce co-produit, associé à l'état des connaissances bibliographiques sur leur structure et leur composition chimique, permet de dégager plusieurs cibles théoriques pour un fractionnement (Tableau 1-36). La caractérisation expérimentale de cette matière première présentée dans le chapitre suivant va nous permettre de préciser ces cibles puis de définir le procédé de fractionnement qui y conduisent.

Tissus de l'animal	Protéines	Lipides	Matières minérales	Constituants minoritaires
Os	Collagène (type I)	Triglycérides	Phosphate de calcium	GAG (chondroïtine sulfate)
Cartilage	Collagène (type II, IX, X, XI)			GAG (chondroïtine et kératane sulfate)
Ligaments, tendons	Collagène (type I et III), élastine			
Muscle	Actine, myosine	Triglycérides, phospholipides		GAG (ac.hyaluronique) Composés aromatiques
Gras		Triglycérides		Composés aromatiques

Tableau 1- 36 : Récapitulatif des principaux constituants des tissus présents dans le co-produit de jambon sec susceptibles de devenir une cible pour le fractionnement

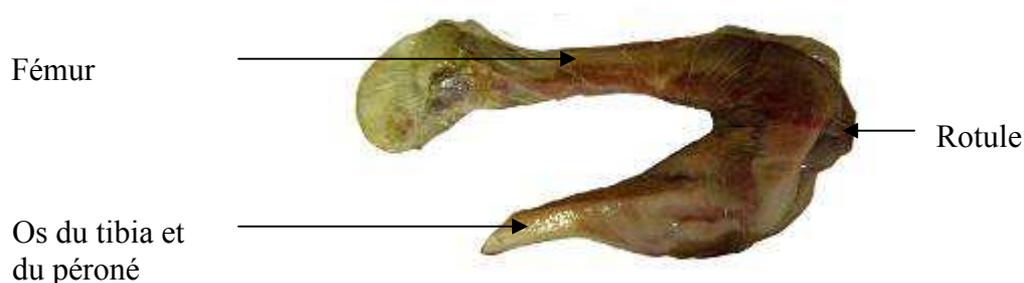
2. Caractérisation de la matière première

Les étapes de parage avant séchage et de désossage du jambon séché avant découpe et conditionnement pour la commercialisation (Figure 1-2, § 1) génèrent le co-produit de jambon sec qui constitue la matière première de notre étude (Photographie 2- 1). Il représente un gisement de 9 000 t par an dans les installations du site d'Aoste de la société Campofrio Food Group.

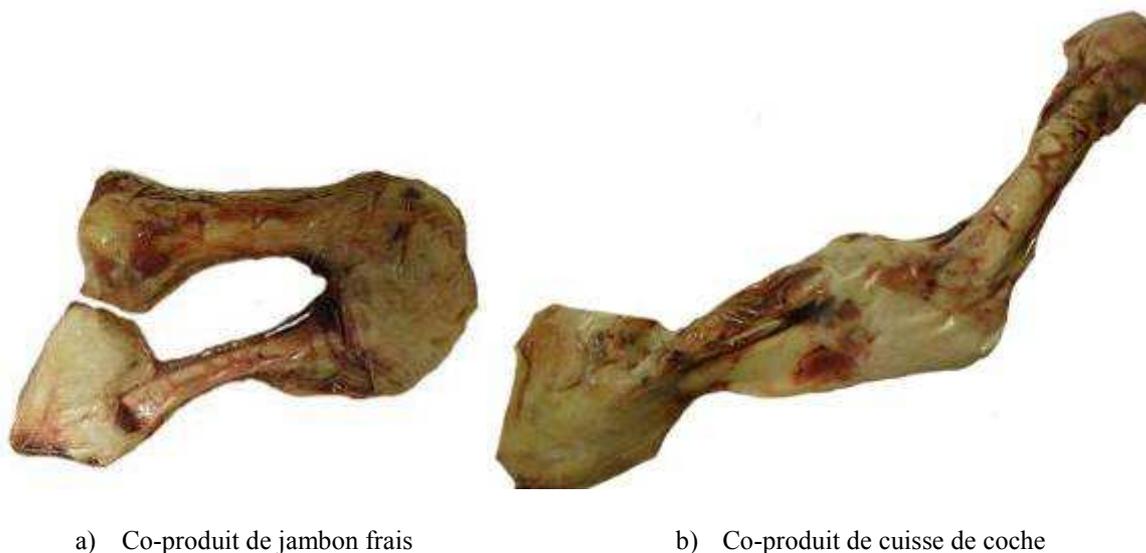
Bien que d'apparence physique proche de celle du co-produit équivalent issu du désossage pour la fabrication de jambon frais (Photographie 2- 2), il s'en distingue directement par plusieurs observations :

- absence des têtes d'os du tibia et du péroné,
- couleur brune plus marquée
- odeur marquée de jambon sec
- rigidité plus marquée des articulations

Ces caractéristiques générales du co-produit de jambon sec choisies pour notre étude sont évidemment liées au mode de préparation du jambon entier (découpe des pattes avant séchage) et au traitement de salage et de séchage (Figure 1- 8), qui agiront sur la répartition massique des tissus animaux présents dans le co-produit, sur celle des principaux constituants chimiques (matière minérale, lipides et protéines), et sur la proportion des constituants minoritaires présents.



Photographie 2- 1 : Co-produit de jambon sec



Photographie 2- 2 : Co-produit de jambon frais et cuisse de cochon

2.1. Répartition des principaux constituants du co-produit de jambon sec

2.1.1. Caractéristiques générales du co-produit de jambon sec

Les co-produits de jambon sec ont été fournis par la société Aoste. Il s'agit d'une part de prélèvements ponctuels en sortie de l'atelier de désossage, conditionnés par emballage sous vide, et d'autre part de lots de 250 kg réfrigérés pour le transport, concassés en broyeur à marteaux jusqu'à une taille inférieure à 8 cm, et stockés à +4 °C.

La répartition des différents tissus animaux est déterminée par séparation mécanique manuelle, avec l'aide d'un couteau de boucher, sur les échantillons de co-produits entiers. Bien que peu significatifs sur le plan statistique pour être extrapolés aux flux de matières produites par l'opération de désossage (nombre d'échantillons trop faible), les résultats obtenus (Tableau 2- 1) permettent de confirmer plusieurs points caractéristiques des co-produits :

- la proportion de restes de tissus musculaires, riches en protéines sarcoplasmiques et myofibrillaires, est minoritaire, et proche dans les deux types de co-produits.
- de même la proportion de matières grasses (gras et couenne résiduelle), constituées essentiellement de triglycérides, est faible, voisine dans les deux co-produits, tout comme

celle de ligaments. Bien que ces répartitions pondérales de tissus ne tiennent pas compte de la matière sèche de chacun d'entre eux, et que la perte en eau dans l'opération de séchage n'est probablement pas uniforme dans chaque type de tissus, il apparaît que l'opération de désossage est menée industriellement avec une efficacité de récupération des masses musculaires très voisine dans les deux cas, avec 21 % de tissus autres que l'os et le cartilage restant dans le co-produit.

— la plus faible proportion de cartilage dans le co-produit de jambon sec que dans celui frais (respectivement 6 et 15 %), bien qu'elle doive aussi être pondérée par la perte en matière sèche qui n'est pas forcément uniforme, s'explique principalement par l'absence des têtes de tibia et péroné.

— au final, le co-produit de jambon sec se caractérise par rapport à celui du jambon frais par une proportion nettement majoritaire et plus élevée d'os nu (près de 75 % de la masse de matière).

Tissu animal	Co-produit de jambons sec (% de matière)	Co-produit de jambon frais (cuisse de cochon déviandée) (% de matière)
Muscle	4 ± 1	6 ± 2
Cartilages	6 ± 1	15 ± 2
Gras, couenne	9 ± 0	8 ± 1
Ligaments	8 ± 1	7 ± 1
Os nu	73 ± 4	60 ± 3

Tableau 2- 1 : Répartition des tissus dans le co-produit de jambon sec et frais

Trois autres caractéristiques physico-chimiques permettent de différencier nettement le co-produit de jambon sec du co-produit de jambon frais.

a) La matière sèche du co-produit de jambon sec, déterminée selon la norme Afnor NF V 03-706, est nettement plus élevée : 79 ± 1 % pour les échantillons de co-produit entier et 77 ± 3 % pour les échantillons de lot de co-produit broyés, alors qu'elle est de 62 ± 2 % et 69 ± 2 % respectivement dans les échantillons de co-produits frais correspondants.

b) Le taux de sel (chlorure de sodium) dans le co-produit de jambon sec, déterminé par la méthode de Charpentier-Volhard (voir partie expérimentale § 5.1.2.2) est de $5,2 \pm 0,15$ g pour 100 g de matière broyée, soit $6,8 \pm 0,2$ g pour 100 g de matière sèche. Lors de l'étape de salage du jambon avant séchage, le taux de sel mis en œuvre est de 6 g pour

100 g de produit frais. Ce qui indique que lors de l'étape de maturation et de séchage du jambon entier, la diffusion du sel à travers la viande se fait bien jusqu'aux tissus osseux.

Remarquons aussi que la présence du chlorure de sodium à une telle concentration dans le co-produit de jambon sec broyé (5,2 g de NaCl pour 100 g de matière fraîche à 23 % d'eau représenterait une concentration dans l'eau de 3,9 M) se traduit par le fait que remis en suspension dans l'eau, la force ionique de la solution aqueuse sera modifiée (10 g de co-produit broyé dans 40 g d'eau au ratio L/S de 4 conduit à une solution de NaCl de 12 g/l soit 0,2 M si tout le sel est extrait), ce qui agira sur la solubilité des protéines.

c) Le pH du co-produit de jambon sec est compris entre 6 et 6,1. Cette valeur est inférieure à celle relevée dans la littérature pour l'os de porc voisine de 7,4 (Nicolalde et al., 2006). Mais elle reste supérieure aux valeurs minimum du pH des muscles post-mortem atteintes lors de leur transformation en viande (7-7,2 à 5,3-5,8), diminution attribuée à la transformation du glycogène en acide lactique en conditions anaérobies dès lors que le muscle ne reçoit plus d'oxygène (Keeton et al., 2004).

Une matière sèche plus élevée, un taux de sel relativement élevé et un pH de 6 apparaissent comme des indices d'une meilleure stabilité du co-produit de jambon sec comparé au co-produit de jambon frais.

La séparation des différents tissus du co-produit de jambon sec pourrait être intéressante dans la perspective d'une valeur ajoutée importante apportée par l'extraction d'un constituant chimique de l'une de ces parties. Ce pourrait être le cas pour les GAG et l'acide hyaluronique des cartilages ou l'élastine et le collagène des tendons (§ 1.3.1.1 et § 1.3.1.2 c). Cependant cette opération de séparation (fractionnement mécanique) est difficilement mécanisable et cette voie n'a pas été retenue en première approche. Nous nous sommes donc intéressés à la composition chimique des fractions extractibles du co-produit de jambon sec tel qu'issu du désossage.

2.1.2. Répartition en lipides, protéines et matières minérales du co-produit de jambon sec.

Les méthodes de dosage des principaux constituants lipidiques, protéiques et minéraux sont rapportées en partie expérimentale : NF 03-922 pour les minéraux (§ 5.1.2.1), NF V 18-100 pour les protéines selon la méthode de Kjeldahl avec un facteur de conversion de 6,25 (§ 5.1.3.1) et NF ISO 734-1 pour les lipides (§ 5.1.4.1).

Les résultats obtenus dans le cas du lot de 250 kg de co-produits concassés au broyeur à marteaux (taille des particules de 2 à 80 mm) révèlent une répartition proche du tiers des 90 % de la matière sèche pour chacun des constituants analysés, mais avec des écarts types relativement élevés, imputables à la difficulté de la prise d'échantillon sur une matière aussi hétérogène (Tableau 2- 2). Ces valeurs sont néanmoins proches de celles déterminées directement sur les échantillons de pièces entières prélevées, bien que la teneur en cendres minérales y apparaisse plus élevée, tout comme son écart type. Les valeurs de 31 ± 3 % de lipides et 33 ± 5 % de protéines ont cependant été confirmées sur d'autres lots de co-produits broyés destinés aux opérations pilote de fractionnement et à la préparation d'échantillons.

Analyses	Matière sèche (%)	Cendres minérales (% MS)	Lipides (% MS)	Protéines (% MS)
Co-produit de jambon sec concassé (lot 250 kg) (n=10)	77 ± 3	26 ± 4	31 ± 3	33 ± 5
Co-produit de jambon sec entier (n=2)	79 ± 1	33 ± 7	31 ± 3	32 ± 5

Tableau 2- 2 : Répartition des principaux constituants dans le co-produit de jambon sec

La caractérisation de chacune de chacune des fractions ainsi que celle de constituants minoritaires va nous permettre d'élaborer le schéma du fractionnement des co-produits de jambon sec.

2.2. Caractérisation de la fraction protéique du co-produit de jambon sec

La teneur en collagène du co-produit de jambon sec est déterminée par le dosage de l'hydroxyproline selon la norme ISO 31961994 (partie expérimentale § 5.1.3.3). Avec une teneur de 28,5 % par rapport à la matière sèche de co-produit (Tableau 2- 3), le collagène représenterait 89 % de la fraction protéique (33 %). Ce qui est cohérent avec le fait que la fraction osseuse est majoritaire dans le co-produit de jambon sec (Tableau 2- 1) et que le collagène représente 90 % des protéines du tissu osseux (Sandberg, 1991 § 1.1.3.11).

Echantillon	Teneur moyenne en hydroxyproline ($\mu\text{g/ml}$)	Masse de collagène (%)	Matière sèche (%)	Collagène sur matière sèche (%)
Matière première	$0,0275 \pm 0,0004$	$22,0 \pm 0,3$	77,1	$28,5 \pm 0,4$

Tableau 2- 3 : Dosage du collagène dans le co-produit de jambon sec

L'analyse de la teneur en acides aminés comparée de la matière première et de celle du collagène est aussi un indicateur de la teneur en collagène du co-produit de jambon sec. Les analyses d'acides aminés totaux présentent l'ensemble des acides aminés dosés, tandis que les acides aminés libres (AAL) ne représentent que la part non liée à d'autres acides aminés pour former des peptides ou des protéines. En terme expérimental, la fraction prélevée pour l'analyse des AAL ne subit pas d'hydrolyse acide. Cette forme libre peut résulter d'une déstructuration des protéines, et tire son avantage nutritif dans le fait d'être mieux absorbée (Applebaum et al., 2004; Ronnestad et al., 2000). Les résultats de composition en acides aminés sont donnés ci-après (Figure 2- 1, Figure 2- 2).

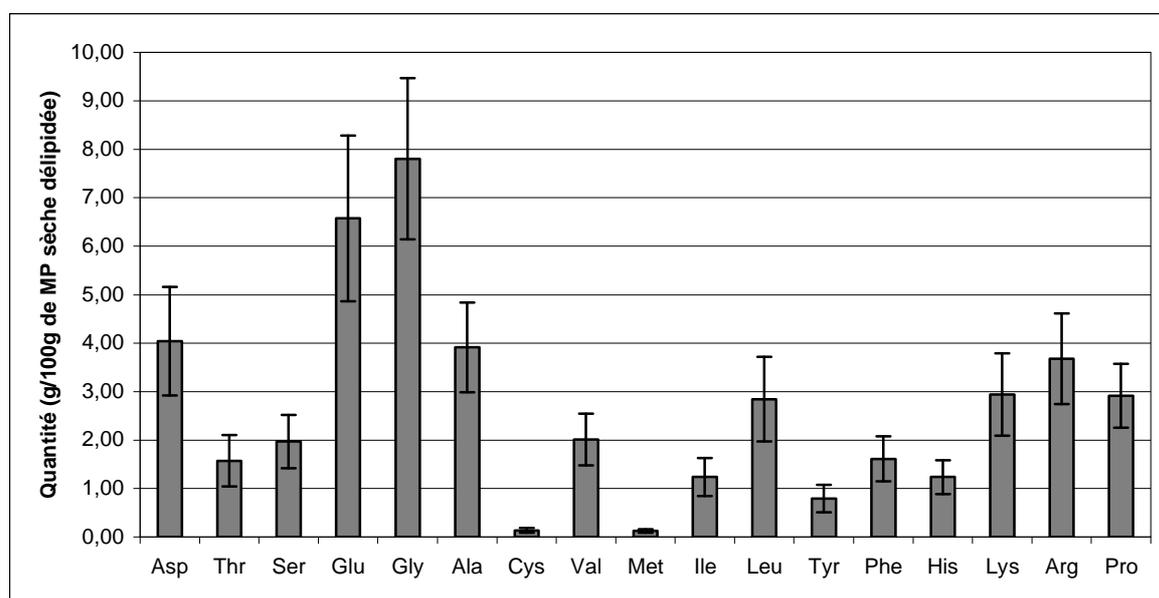


Figure 2- 1 : Composition en acides aminés totaux de la matière première (g/100 g de matière première sèche délipidée)

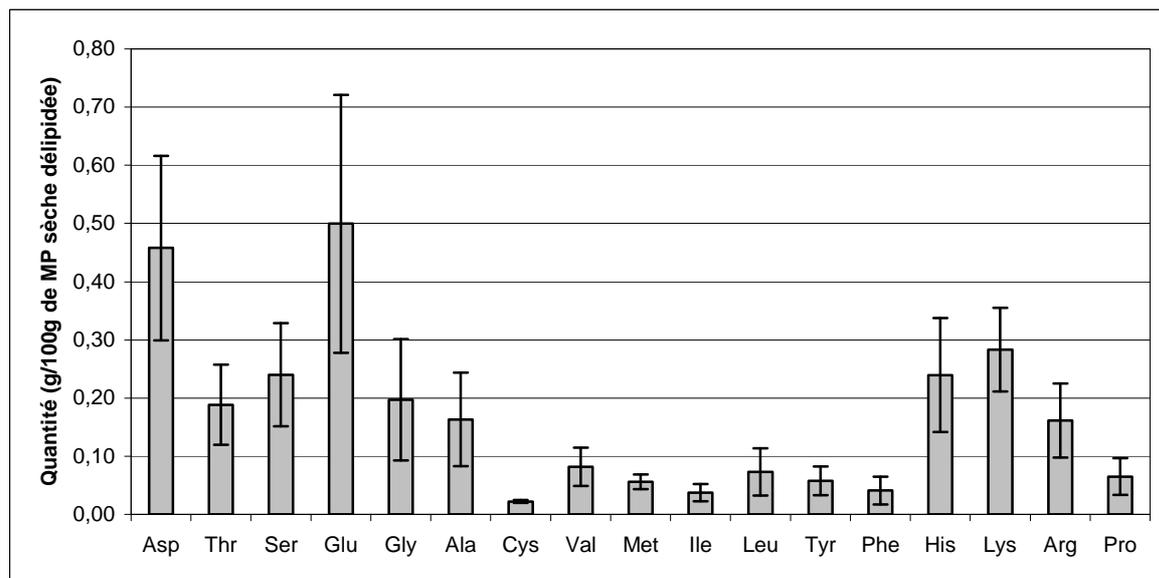


Figure 2- 2 : Composition en acides aminés libres de la matière première (g/100 g de matière première sèche délipidée)

Les teneurs en acides aminés totaux vont permettre d’apporter un correctif au facteur de conversion employé pour le dosage des protéines par la méthode de Kjeldahl. Le facteur de conversion employé est généralement de 6,25, (qui correspond à un taux moyen d’azote de 16 % dans les denrées alimentaires). Or, la détermination de la teneur en protéines par le dosage de l’azote total varie en fonction de la richesse des acides aminés en azote. Si la plupart des acides aminés ne possèdent qu’une fonction azotée, la lysine en contient 2, l’histidine 3 et l’arginine 4 (Gropper et al., 2008).

La composition en acides aminés totaux de la matière première permet de déterminer un facteur de conversion de $6,77 \pm 0,06$ ($n=3$) qui correspond au poids moléculaire de l’ensemble des acides aminés (11 656 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$), hydroxyproline comprise, divisé par le poids moléculaire de l’azote contenu dans cet ensemble ($123 \times 14,007 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$). Tout au long de ce travail nous utiliserons cependant le facteur de conversion de 6,25 pour les dosages des fractions extraites dont la composition en acides aminés peut varier en fonction de la nature des protéines solubilisées, afin que la comparaison avec d’autres produits analysés selon la norme employée soit cohérente. Mais la prise en compte du facteur de conversion à une valeur de 6,8 porterait la teneur en protéines du co-produit de jambon sec à $36 \pm 5,5$ % de la matière sèche.

L’analyse de la composition en acide aminé hors hydroxyproline (partie expérimentale § 5.1.3.2) confirme la présence majoritaire de collagène dans la fraction

protéique du co-produit, par comparaison avec la répartition dans un collagène décrit dans la littérature (Li et al., 2009) (Figure 2- 3).

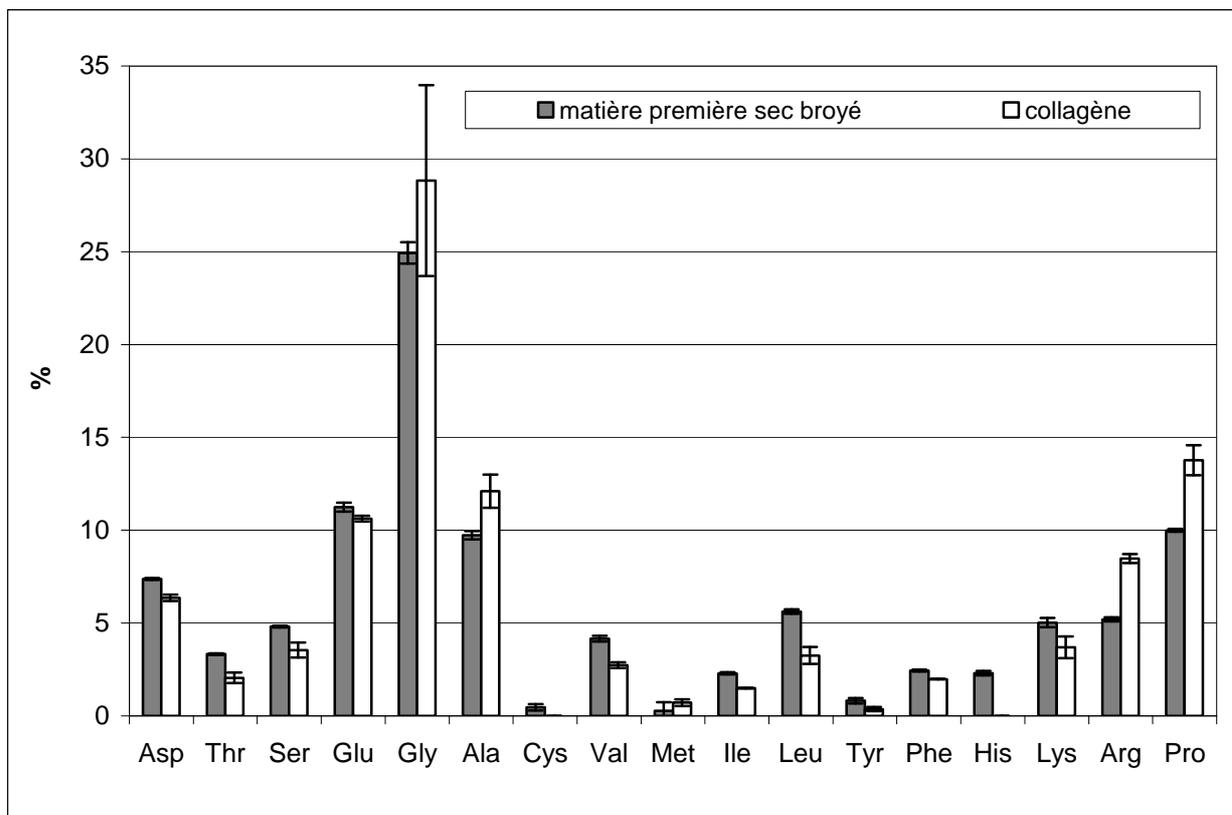


Figure 2- 3 : Composition en acides aminés totaux (en % relatif massique) dans le co-produit de jambon sec broyé et le collagène osseux de mammifère (Li et al., 2009)

Cependant, plusieurs écarts de teneur en chacun des acides aminés entre l'aminogramme d'un collagène purifié et de la fraction protéique du co-produit de jambon apparaissent (Tableau 2- 4).

Acide aminé	Co-produit de jambon	Collagène*	Ecart co-produit de jambon et collagène	Jambon sec**	Ecart jambon sec et collagène
Asp	7,4	6,4	1,0	4,6	-1,8
Thr	3,3	2,0	1,3	-	-
Ser	4,8	3,5	1,3	8,1	4,5
Glu	11,2	10,6	0,6	13,5	2,9
Gly	24,9	28,8	-3,9	5,8	-23,1
Ala	9,7	12,1	-2,4	11,4	-0,7
Cys	0,5	-	-	-	-
Val	4,2	2,7	1,4	7,9	5,2
Met	0,3	0,7	-0,4	3,9	3,2
Ile	2,3	1,5	0,8	5,8	4,3
Leu	5,6	3,3	2,4	9,7	6,4
Tyr	0,8	0,4	0,4	5,4	5,0
Phe	2,4	2,0	0,5	6,2	4,3
His	2,3	-	-	-	-
Lys	5,0	3,7	1,3	11,7	8,0
Arg	5,2	8,5	-3,3	-	-
Pro	10,0	13,8	-3,8	6,0	-7,8

* collagène de mammifère (Li et al., 2009)

** jambon sec (Robert et al., 2007)

Tableau 2- 4 : Répartition massique des acides aminés par rapport aux acides aminés totaux dans le co-produit de jambon sec, le collagène et le jambon sec (% du total des acides aminés)

Ces écarts indiquent que d'autres types de protéines sont effectivement présents, provenant des protéines non collagéniques de tissus osseux (2 % de la masse osseuse § 1.3.1.1, Tableau 1-24), mais aussi de l'élastine des tissus cartilagineux et ligamentaires (§ 1.2.2.2) et des protéines sarcoplasmiques et myofibrillaires des restes de muscles (§ 1.3.1.2, Tableau 1-27). Ainsi, les acides aminés dont les proportions sont plus élevées dans le jambon sec (Robert et al., 2007), essentiellement constitué de tissus musculaires, que dans le collagène purifié (Li et al., 2009), majorent leur proportion dans l'aminogramme du co-produit de jambon, par comparaison au collagène. C'est en particulier sensible pour la sérine, glutamine, valine, isoleucine, leucine, tyrosine, phénylalanine et lysine, alors que c'est l'inverse pour la glycine, l'arginine et la proline, dont les proportions dans le jambon sec sont plus faibles que dans le collagène. Les cas de l'acide aspartique, à la limite de la signification du fait de l'écart type sur son dosage dans le jambon sec, de la méthionine présente en très faible proportion dans le collagène, de la tyrosine plus fortement présente dans le co-produit de jambon que dans le collagène alors qu'elle est absente dans le jambon sec, et surtout de la cystéine et de l'histidine présentes dans le co-produit de jambon alors qu'elles sont quasiment

absentes dans le jambon sec et le collagène, pourraient être des indicateurs de la présence d'autres types de protéines non musculaires ou collagéniques.

Néanmoins, les écarts significatifs entre les proportions d'acides aminés dans l'aminogramme du co-produit de jambon sec et celui du collagène purifié confirment bien que la fraction collagénique représenterait plus de 75 % de la fraction protéique totale du co-produit de jambon. C'est notamment indiqué par la teneur en glycine, qui représente le tiers des acides aminés de la structure collagénique (§ 1.3.1.1). La répartition des constituants du co-produit de jambon se reflète sur la composition en acides aminés. C'est vrai pour la fraction osseuse, qui représente 73 % du co-produit en masse et contribue à cet apport collagénique, mais également pour les cartilages et tendons (13,9 % en masse). Si les tissus gras ne contiennent que très peu d'acides aminés, ceux des protéines myofibrillaires devraient se retrouver dans l'aminogramme du co-produit malgré la proportion massique du muscle (4 %). C'est notamment le cas pour l'acide glutamique, l'asparagine, la lysine et la leucine qui sont les acides aminés majoritaires de la myosine, et l'acide glutamique et asparagine pour l'actine (Raszkowski et al., 1977).

Du point de vue de leur extraction, la solubilité des protéines est sensible au pH du milieu (Mathews et al., 1992). La courbe de solubilité (partie expérimentale § 5.1.3.5) (Figure 2- 4) indique qu'au pH du co-produit de jambon sec de 6, 14 % des protéines seraient solubles et qu'un pH de 12 permet d'atteindre une solubilité de 18 % des protéines initiales.

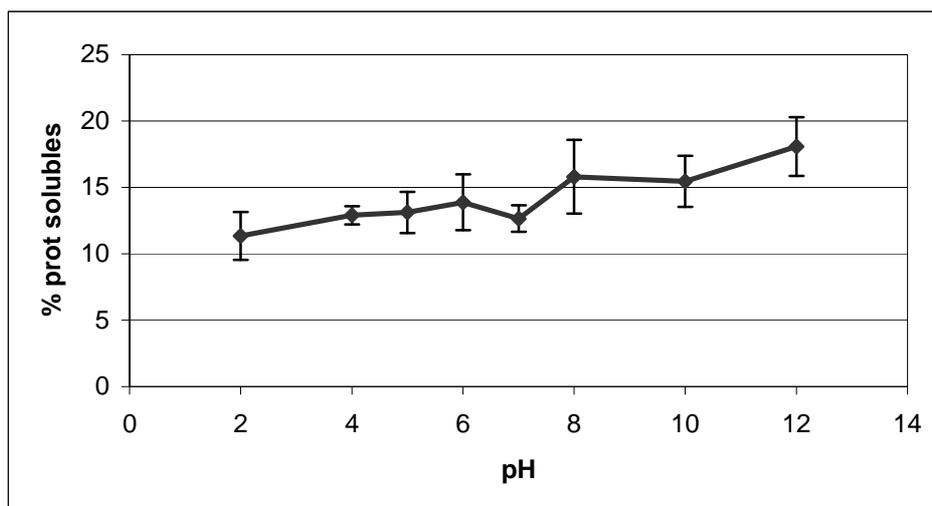


Figure 2- 4 : Solubilité des protéines de co-produits de jambon sec (g de protéines solubles/g de protéines totales de l'échantillon) en fonction du pH

La séparation des protéines en fonction de leur différence de solubilité en tampon phosphate de sodium permet de les distinguer en trois catégories. Ainsi 92 % des protéines du co-produit de jambon sont classées dans la catégorie des protéines insolubles IN (Tableau 2-5) selon le protocole décrit par Nuckles (partie expérimentale § 5.1.3.4). Il s'agirait essentiellement de collagène insoluble et d'élastine.

Conditions opératoires	Protéines solubilisées* (%)
Co-produit de jambon sec 7,5 % dans l'eau à pH 12, 60 min. à 20 °C	18 ± 2
Co-produit de jambon sec 20 % dans le tampon phosphate de sodium 0,05 M, à pH 7,4, 3h à 4 °C (2 fois)	6 ± 1
Culot de centrifugation à 20 % dans le tampon phosphate de sodium 0,05 M +NaCl 0,6 M 3 h à 4 °C (2 fois)	2 ± 0

Tableau 2- 5 : Répartition des protéines de co-produit de jambon en fonction de leur solubilité

La fraction soluble dans les solutions concentrées en sel (HIS), qui ne représente que 2 %, est attribuée aux protéines myofibrillaires, alors que celle soluble au tampon phosphate de sodium (LIS) aurait pour origine les protéines sarcoplasmiques (Nuckles et al., 1990). Cette répartition massique entre les fractions LIS et HIS selon le protocole de Nuckles doit cependant être pondérée par le fait que le co-produit de jambon contient déjà du chlorure de sodium qui interférera avec la détermination de la masse de protéines solubilisées dans le tampon phosphate de sodium mis en œuvre pour la première extraction.

L'analyse de la répartition des acides aminés présents dans chacune de ces fractions classées par solubilité permet cependant de confirmer leur composition (Figure 2- 5 et Figure 2- 6).

Ces aminogrammes confirment qu'une part des acides aminés retrouvés dans le co-produit de jambon est libre, davantage présente dans la fraction LIS et donc soluble. La fraction IN possède un profil semblable à celui donné dans la littérature pour le collagène, ce qui est cohérent avec la nature hétérogène du co-produit et la présence simultanée d'éléments osseux et de résidus de viande. Cependant, la fraction LIS possède une teneur en glycine élevée, témoignant de la solubilité et de l'extraction possible de collagène.

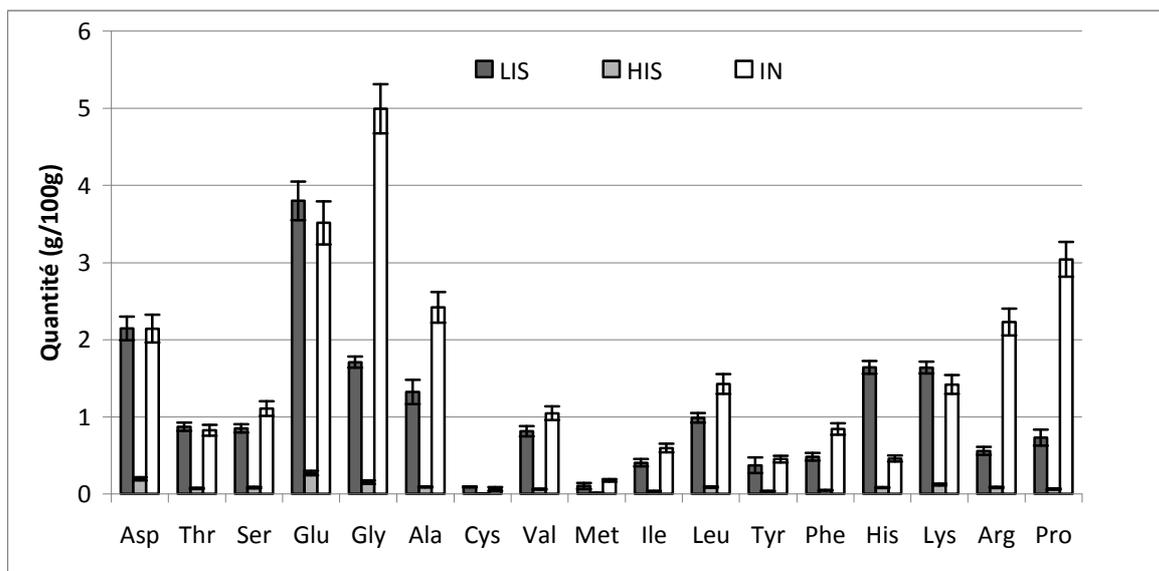


Figure 2- 5 : Composition en acides aminés totaux (g/100 g de matière sèche) des protéines du co-produit de jambon sec broyé

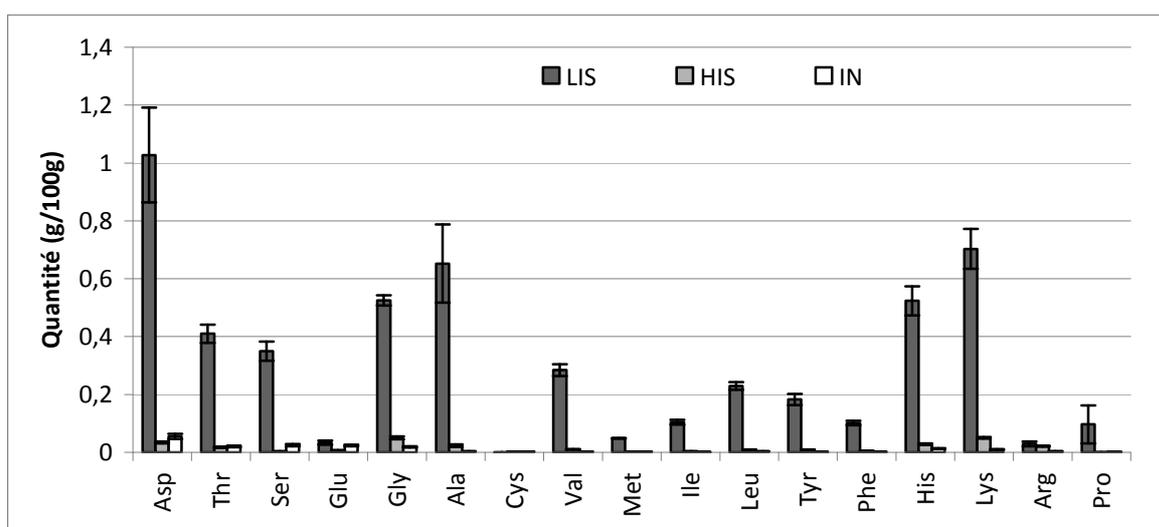


Figure 2- 6 : Composition en acides aminés libres (g/100 g de matière sèche) des protéines du co-produit de jambon sec broyé

La comparaison avec les compositions en acides aminés données par la littérature pour d'autres protéines du muscle permet de constater que l'acide glutamique, l'asparagine et l'alanine, qui sont les acides aminés majoritaires de l'actine (Carsten, 1963; Kominz et al., 1954) se trouvent dans les fractions LIS. Les acides aminés provenant de la myosine et susceptibles de se retrouver dans la fraction LIS sont l'acide glutamique principalement, mais également la leucine et l'asparagine (Bodwell et al., 1971; Sharp, 1939). L'élastine apporte principalement aux fractions protéiques des acides aminés comme l'alanine, la valine ou la proline (§ 1.3.1.1, tableau 1-26).

Le profil de répartition des acides aminés pour ces protéines permet donc de constater que les protéines myofibrillaires se retrouvent également dans la fraction LIS et IN, et que des protéines dites insolubles comme le collagène ou l'élastine sont en réalité partiellement solubles et extractibles.

2.3. Caractérisation de la fraction lipidique du co-produit de jambon sec

L'analyse des caractéristiques physico-chimiques (Tableau 2- 6), de la composition glycéridique (Tableau 2- 7) et de la composition en acides gras (Tableau 2- 8) de la fraction lipidique du co-produit de jambon sec (partie expérimentale § 5.1.4) permet de caractériser cette matière grasse extraite par le cyclohexane.

	Norme	Résultat
Point de fusion		Visqueux à +20 °C, limpide à +40 °C
Indice d'acide	NF EN ISO 660	30,7 ± 0,5 mg KOH/g
Indice d'iode	NF EN ISO 660	53,7 ± 0,3 g/100g
Indice de saponification	NF ISO 3657	203,4 ± 1,3 mg KOH/g
Insaponifiables	NF EN ISO 18609	1,18 ± 0,02 %
Indice de peroxyde	NF EN ISO 3960	98,9 ± 2,5 meq d'oxygène actif/kg
Indice de P-anisidine	NF EN ISO 3961	22,7 ± 0,6

Tableau 2- 6 : Caractérisation physico-chimique de l'extrait lipidique de co-produit de jambon sec

Composé	Nature	Composition glycéridique (g/100 g de corps gras)
Acide palmitique (C16)	Acide gras libre	3,0 ± 0,2
Acide stéarique (C18)		7,6 ± 0,5
diC16	Diglycérides	2,3 ± 0,2
diC18		1,2 ± 0,0
T46	Triglycérides	0,5 ± 0,1
T48		1,6 ± 0,1
T49		Nd
T50		12,3 ± 0,6
T51		0,8 ± 0,0
T52		44,4 ± 2,7
T53		0,7 ± 0,1
T54		9,8 ± 0,8
Total	Total	84,2 %

Tableau 2- 7 : Analyse glycéridique de la fraction lipidique de co-produit de jambon sec

Ecriture simplifiée	Nom commun	Composition (g/100g d'acides gras)
C14:0	ac. myristique	1,3
C16:0	ac. palmitique	23,8
C18:0	ac. stéarique	12,9
Autres		3,3
Total saturés		41,3
C16:1	ac. palmitoléique	2,2
C18:1	ac. oléique	38,1
Autres		1,1
Total monoinsaturés		41,4
C18:2 (ω 6)	ac. linoléique	4,6
C20:4 (ω 6)	ac. aracidonique	0,1
Autres		0
Total ω6		4,7
C18:3 (ω 3)	ac. g linoléique	1,2
	ac. eicosapentaénoïque	
C20:5 (ω 3)	(EPA)	0,2
Autres		0,1
Total ω3		1,5
Total poly-insaturés		6,1
Polyinsaturés/total		0,07

Tableau 2- 8 : Composition en acide gras de la fraction lipidique du co-produit de jambon sec

a) A l'état visqueux à température ambiante cette matière grasse fond à 40 °C, valeur proche de celles relevées dans la littérature pour le saindoux et les extraits lipidiques de moelle d'os, entre 36 et 45 °C et entre 36 et 45 °C respectivement (Karleskind et al., 1996; Ockerman, 1991).

b) L'indice d'acide relativement élevé (30,7 mg KOH/g ou 3 %), comparable à celui d'une matière grasse animale comme le saindoux – de 1 à 6 % (Karleskind et al., 1996) –, et la moelle – de 3 à 4 % (Ockerman, 1991) –, témoigne de l'évolution de la fraction lipidique lors du séchage du jambon, (Gandemer, 2002). Gandemer a caractérisé cette évolution par l'augmentation de la teneur en acides gras libres, une augmentation de la teneur en diglycérides et la disparition des phospholipides (Figure 2- 7). L'analyse de la composition en glycérides de la fraction lipidique extraite du co-produit de jambon révèle effectivement une proportion élevée d'acides gras libres (plus de 10 %), en particulier d'acide stéarique, ainsi que la présence de diglycérides (plus de 3 %), pour une proportion de triglycérides de 70 %.

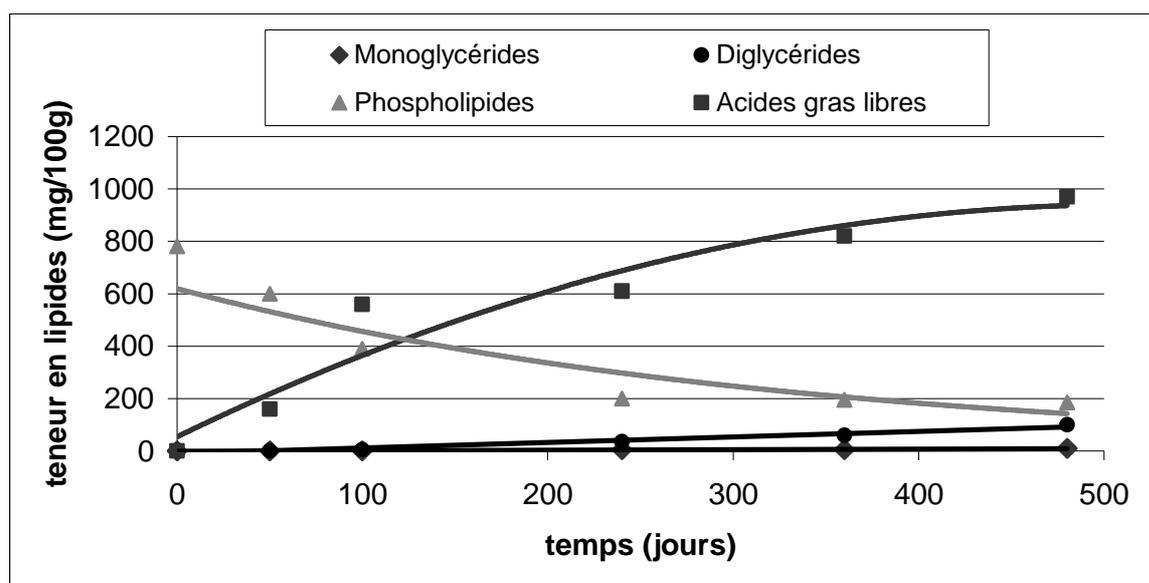


Figure 2- 7 : Evolution de la composition lipidique du jambon sec au cours du procédé de séchage (Gandemer, 2002)

c) L'indice d'iode ($49,9 \text{ g I}_2/100 \text{ g}$) est voisin de celui relevé pour la matière grasse extraite d'os ($52-55 \text{ g I}_2/100 \text{ g}$) (Karleskind et al., 1996), du lard ($46-70 \text{ g I}_2/100 \text{ g}$), du gras de volaille ($66-71 \text{ g I}_2/100 \text{ g}$) ou d'un gras bovin ($35-55 \text{ g I}_2/100 \text{ g}$) (Ockerman, 1991). Cette valeur relativement élevée par comparaison avec celle d'une huile de coprah ($6-11 \text{ g I}_2/100 \text{ g}$) (Knothe, 2002) ou d'une huile d'amande de palme ($13-23 \text{ g I}_2/100 \text{ g}$) (Young, 1983), est caractéristique d'une proportion élevée d'acides gras insaturés dans la composition des triglycérides. En effet, l'analyse de la répartition des acides gras de la fraction lipidique du co-produit de jambon sec révèle un rapport saturé/insaturé de 0,87, avec la présence majoritaire d'acide oléique (38 % C18 :1) dans les insaturés (80 %) et des acides palmitiques (24 % C16 :0) et stéariques (13 % C18 :0) pour les saturés. Ces acides gras majoritaires se retrouvent sous forme de triglycérides (T50, T52, T54), et dans une moindre proportion de diglycérides et d'acides gras libres, en particulier pour l'acide stéarique.

Remarquons que les diglycérides sont des di C16 et di C18 (C18 :0 ou C18 :1), les acides gras libres sont C16 et C18 (surtout C18) et la répartition des acides gras principaux correspond à 38 % de C18 :1, 24 % de C16 :0 et 13 % de C18 :0. Comme dans le saindoux (Tableau 2- 9), on devrait donc retrouver cette proportion dans les triglycérides.

Triglycéride	Nombre de carbones	Saindoux (%)	Suif (%)
P-P-St	T50	2,0	3,6
St-P-St	T52	2,0	
P-St-St	T52		3,2
P-O-P	T50		5,8
P-O-St	T52		10,5
St-O-St	T54		4,8
P-P-O	T50	7,9	3,9
St-P-O	T52	12,8	3,6
P-O-O	T52	5,2	12,1
St-O-O	T54	6,1	5,9
O-P-O	T52	18,4	2,1
St-P-L	T52	2,1	
O-O-O	T54	11,7	4,9
O-P-L	T52	7,2	
Autres	-	24,6	39,6

P = acide palmitique
O = acide oléique
St = acide stéarique
L = acide linoléique

Tableau 2- 9 : Triglycérides majoritaires dans le gras de porc (saindoux) et de bœuf (suif) (Gunstone et al., 1997)

d) L'insaponifiable correspond à la mesure de tout ce qui n'est pas acides gras et esters d'acides gras. La mesure de l'insaponifiable dans le co-produit de jambon sec est de 1,2 %, ce qui est un peu plus que les valeurs relevées dans la littérature, pour le lard (0,8 %) (Ockerman, 1991). A titre comparatif cependant, une huile de tournesol possède une teneur maximale en insaponifiable de 1,5 % et une huile de maïs peut atteindre 2,8 % (Gunstone et al., 1997).

e) Les indices de peroxyde, de p-anisidine caractérisent la teneur en peroxyde formé par adsorption d'oxygène et « dégradation » des matières grasses, et leur transformation en aldéhyde en particulier. Ce sont des indices de l'état de dégradation des corps gras. Les acides gras di-insaturés sont 100 fois plus sensibles à l'oxydation que les insaturés (c'est-à-dire que l'oxydation est 100 fois plus rapide) et 10 fois plus que les mono-insaturés. Ceci pourrait expliquer que l'acide linoléique C18:2 est en proportion anormalement faible dans le co-produit de jambon sec par comparaison avec le gras et la moelle (Tableau 2- 10).

f) La comparaison de la composition en acides gras de la fraction lipidique extraite du co-produit de jambon sec avec les données relevées dans la littérature pour la moelle de vertèbres de mammifères (Yeung et al., 2008) et les tissus adipeux sous-cutanés de jambon (Monziols et al., 2007), révèle d'assez nettes différences de répartition, en particulier

pour les teneurs en saturés très faibles dans la moelle, en mono-insaturés et poly-insaturés nettement plus élevées dans la moelle et le gras (Tableau 2- 10). Ces différences pourraient provenir de la différence d'origine des échantillons, en particulier pour la moelle, mais aussi du traitement de séchage du co-produit de jambon.

Par contre, les analyses réalisées par nos soins sur des échantillons de moelle d'os et de gras sous cutané prélevés sur un jambon sec entier apportent des indications sur la contribution de chacun de ces tissus. Même si la teneur en poly-insaturé des lipides du co-produit de jambon sec, en particulier comme déjà précisé en acide linoléique C18 :2 très sensible à l'oxydation, sont plus faibles, les teneurs en saturé et mono-insaturé sont plus proches de celles dosées dans la moelle que dans le gras sous cutané. Ce qui apparaît cohérent avec la séparation des tissus animaux dans le co-produit de jambon sec : 73 % d'os contenant 25 % de moelle à 74 % de lipides (Calhoun et al., 1998) pour 9 % de gras et couenne à 63 % de lipides, soit une contribution théorique de 70 % pour la moelle et de 30 % pour le gras sous-cutané. Même si cette répartition n'est pas à l'image directe de ces contributions, les lipides extractibles du co-produit de jambon sec sont proches de ceux de la moelle de l'os de jambon sec.

Ecriture simplifiée	Co-produit de jambon sec	moelle		Gras	
		Dosage	Ref*	Dosage	Ref**
C14:0					
Acide myristique	1,3	1,4	-	1,4	1,3
C16:0					
Acide palmitique	23,8	26,2	18,6	21,5	25,0
C18:0					
Acide stéarique	12,9	10,8	5,2	7,5	13,9
Autres	3,3	2,4	-	3,8	-
Total saturés	41,3	40,8	23,8	34,2	40,2
C16:1					
Acide palmitoléique	2,2	3,4	3,1	3,9	2,2
C18:1	38,1	39,6	46,4	41,1	43,9
Autres	1,1	0,4	-	1,0	-
Total monoinsaturés	41,5	43,4	49,5	46,1	46,1
C18:2 (ω6)					
Acide linoléique	4,6	13,1	19,3	9,6	12,6
C20:4 (ω6)					
Acide arachidonique	0,1		-	0,1	-
Autres	0	0,6	-	0,4	-
Total ω6	4,7	13,6	19,3	10,1	12,6
C18:3 (ω3)					
Acide g linolenique	1,2	1,0	0,7	0,9	1,0
C20:5 (ω3)					
Acide eicosapentaénoïque (EPA)	0,2		-	0,1	-
Autres	0,1	0	-	0,1	-
Total ω3	1,5	1,0	0,7	1,1	1,0
Total poly-insaturés	6,2	14,6	20,0	11,3	13,6
Polyinsaturés/total	0,06	0,15	0,29	0,11	0,14

* moelle de vertèbre de mammifère (Yeung et al., 2008)

** tissu adipeux sous-cutané du jambon (Monziols et al., 2007)

Tableau 2- 10 : Comparaison de la composition en acide gras des lipides extraits du co-produit de jambon sec et de moelle et de gras sous cutané de jambon sec (g/100 g d'acides gras totaux)

2.4. Caractérisation de la matière minérale du co-produit de jambon sec

Le dosage des éléments minéraux (Tableau 2- 11) confirme que la fraction minérale du co-produit de jambon sec est essentiellement constituée par du calcium et du phosphore, avec un rapport entre ces éléments de 3 pour 2, identique à celui dans le phosphate de calcium $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, et un rapport massique (65,5 % de Ca et 34,5 % de P) proche de celui donné dans la littérature (Benhayoune et al., 2001; Vallet-Regí et al., 2004) pour les hydroxyapatites de l'os ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) faiblement cristallisée, et $[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]_3\text{Ca}(\text{OH})_2$ (cristal d'os : 68 % de Ca et 32 % de P). Cette différence pourrait être liée à la présence des autres cations (Na, K,

Mg), susceptibles de s'associer à l'anion phosphate au détriment du calcium. C'est notamment le cas du magnésium qui joue un rôle dans la résorption osseuse et la formation de cristaux d'apatites (Kenney et al., 1994). Rappelons que la présence d'une proportion élevée de sodium est aussi imputable au salage du jambon par du NaCl avant séchage (§ 1 Figure 1-2).

Le fer et le zinc présents dans le co-produit de jambon sec à l'état de traces et donnés pour absents de la fraction minérale de l'os dans la littérature (§ 1.3.3 Tableau 1-31), sont probablement d'origine cartilagineuse, ligamentaire, musculaire ou tendineuse. Le fer peut aussi se trouver dans la moelle rouge osseuse, au cœur du tissu spongieux de l'os, dans laquelle il est incorporé à l'hémoglobine (Bessis et al., 1962).

Ca	P	Na	K	Mg	Zn	Fe
<i>g/kg</i>	<i>g/kg</i>	<i>g/kg</i>	<i>g/kg</i>	<i>g/kg</i>	<i>g/kg</i>	<i>g/kg</i>
120,5	63,4	18,8	4,5	2,5	$121,0 \cdot 10^{-3}$	$93,8 \cdot 10^{-3}$

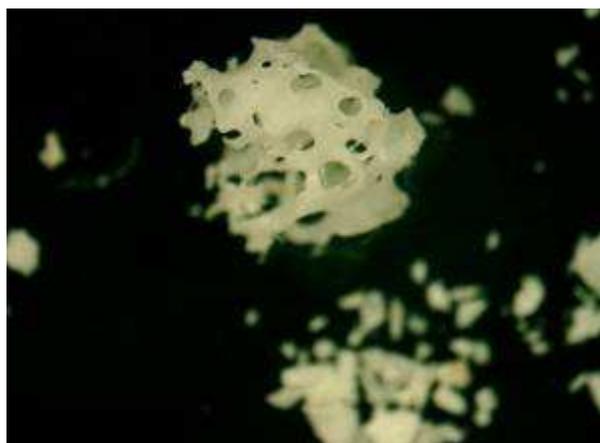
Tableau 2- 11 : Teneur en minéraux du co-produit de jambon sec

Si le phosphate de calcium constitutif des hydroxyapatites d'os est insoluble dans l'eau, il n'en sera pas de même pour tout ou partie des minéraux comme le sodium apporté par le salage, mais également le potassium sous forme de sel, présent dans l'os pour limiter les pertes en calcium (Lemann et al., 1993).

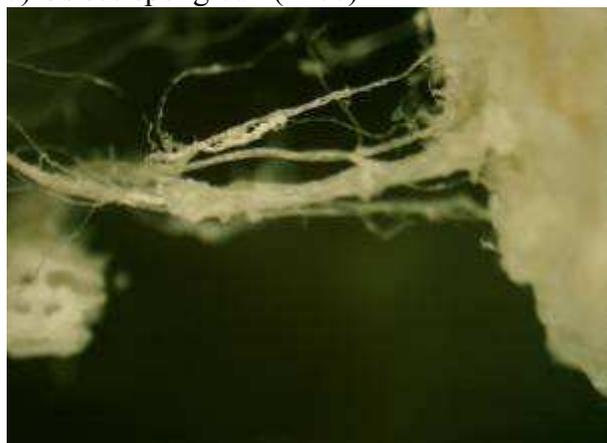
Les observations au microscope du co-produit de jambon sec broyé (partie expérimentale § 5.4.1) (Figure 2- 8) montrent que cette fraction minérale forme une matrice alvéolaire et poreuse (Photographie a et b), caractéristique des tissus osseux (§ 1.2.2.1) et très différente des fractions de tendons (Photographie c) caractérisées par l'organisation parallèle des fibres de collagène, et des fractions de cartilages (Photographie d) qui apparaît comme une structure souple et plus homogène.



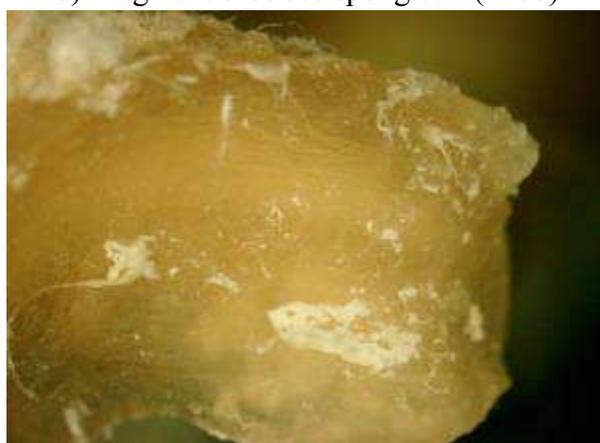
a) Os sec spongieux (x200)



b) Fragment d'os sec spongieux (x200)



c) Tendon (x200)



d) Cartilage de co-produit sec (x100)

Figure 2- 8 : Vue microscopique de composés osseux ou liés à l'os

2.5. Caractérisation de constituants minoritaires du co-produit de jambon sec

En dehors des fractions lipidiques, protéiques et minérales, les constituants minoritaires du co-produit de jambon sec représenteraient moins de 10 % de la matière sèche, probablement répartis en une multitude de molécules liées au métabolisme de l'animal et aux transformations des tissus cellulaires lors de l'élaboration du jambon sec (sucres, vitamines, enzymes, etc.). Parmi ceux-ci, nous nous sommes intéressés à deux catégories constituants minoritaires qui pourraient constituer des cibles intéressantes pour le fractionnement du co-produit de jambon sec, par leurs propriétés chimiques et fonctionnelles et la valeur ajoutée apportée aux fractions extractibles.

2.5.1. Les glycosaminoglycanes (GAG)

Les glycosaminoglycanes sont une famille de molécules constitutive des protéoglycanes donc associée à des protéines, de structure polyosidique, qui leur vaut l'appellation de mucopolysaccharides (§ 1.3.4). Leurs propriétés physicochimiques et leur rôle physiologique en font des cibles d'intérêt dans des domaines d'application à forte valeur ajoutée comme la pharmacie, la cosmétique et la nutraceutique.

Présents dans les cartilages (acide hyaluronique, chondroïtine sulfate, kératane sulfate), l'os (chondroïtine sulfate), les tissus conjonctifs (acide hyaluronique) ou la peau (acide hyaluronique, chondroïtine sulfate), ils devraient être présents dans le co-produit de jambon, et dans le co-produit de jambon sec s'ils n'ont pas été trop dégradés par le traitement de fabrication (salage, séchage et maturation).

Le dosage de l'acide hyaluronique de masse moléculaire élevée, et absent de l'os, n'a pu être réalisé dans le co-produit de jambon sec. Par contre le dosage des GAG sulfatés (partie expérimentale § 5.1.6) révèle une teneur de $15,1 \pm 1,8$ mg par g de matière sèche du co-produit de jambon sec broyé. A titre comparatif, les valeurs relevées dans la littérature sont de $1,1 \pm 0,1$ mg GAG sulfatés/g de matière sèche dans le muscle (Pedersen et al., 1999) et varient de $5,3 \pm 0,4$ à $20,9 \pm 1,9$ mg GAG sulfatés/g de matière sèche selon la localisation (Nakano et al., 1997). Ce qui classe effectivement le co-produit de jambon sec comme une source intéressante pour ce type de GAG.

2.5.2. Les composés aromatiques

Les opérations de salage, maturation et séchage du jambon sec entier développent les caractéristiques aromatiques spécifiques du jambon sec, qui se retrouvent dans le co-produit issu du désossage.

Parmi les méthodes d'extraction des composés aromatiques pour leur identification par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (partie expérimentale § 5.1.5), seule l'Extraction Distillation Simultanée (SDE) a conduit à des résultats satisfaisants pour le co-produit de jambon sec.

Les composés aromatiques du co-produit de jambon, identifiés au nombre de 36 (Figure 2- 9), sont regroupés en familles majoritaires d'aldéhydes, d'hydrocarbures, de

terpènes, de furanes, d'esters, d'alcools et de lactones. La quantité de COV extraits du co-produit est de 120 mg/g de matière sèche.

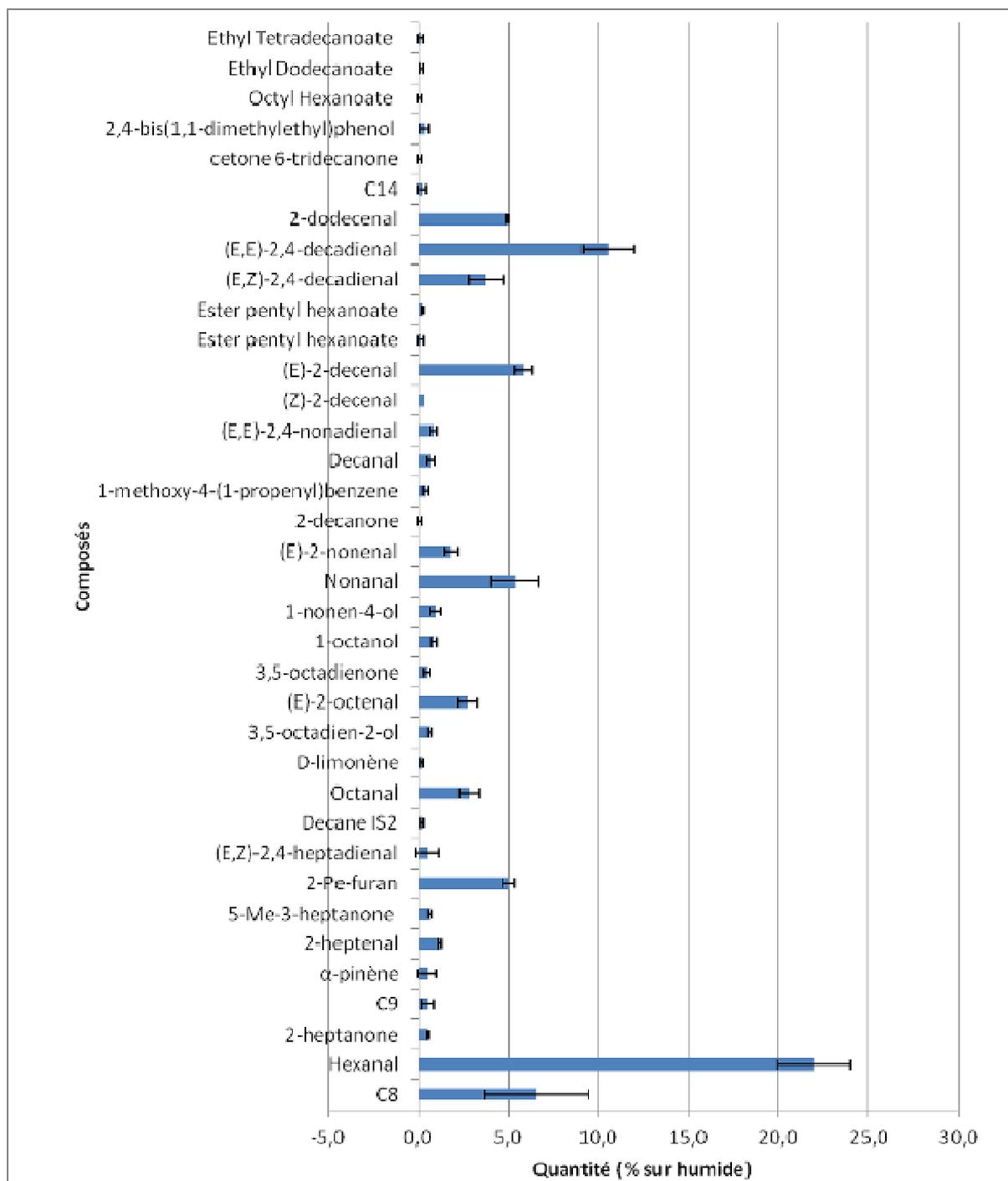


Figure 2- 9 : Répartition des composés aromatiques identifiés dans les extraits de co-produits de jambon sec après extraction par SDE

L'origine de ces composés aromatiques est en partie connue :

— les aldéhydes, sont typiquement liés à l'oxydation lipidique. L'hexanal, par exemple, est issu de l'oxydation de l'acide linoléique (Gianelli et al., 2002). Ces composés peuvent également provenir du catabolisme des sucres ou de la protéolyse de la viande (Berdagué et al., 1991).

— parmi les hydrocarbures, on dénombre 5 n-alcanes et 5 alcanes ramifiés. Ces alcanes proviennent de l'oxydation des lipides ou sont générés par l'oxydation des acides gras présents dans les tissus animaux (Toldra et al., 1997). Ils peuvent également provenir de la part insaponifiable et des fractions végétales utilisées pour nourrir les animaux (Tejeda et al., 2001).

— la présence de terpènes, qui ne se trouvent pas sur les profils donnés dans la littérature comme étant caractéristique d'un composé aromatique spécifique du jambon sec (Berdagué et al., 1991), n'apparaît également pas dans les blancs à l'injection.

— les furanes sont des hétérocycles produits au cours de la réaction de Maillard, qui correspond à une réaction très lente de surface à proximité de la matière grasse (Barbieri et al., 1992).

— quant aux esters, ils pourraient provenir de l'action des levures et des bactéries responsables de leur formation durant le séchage (Fulladosa et al., 2010; Ruiz et al., 1999).

Ces composés aromatiques pourraient apporter une valeur ajoutée aux extraits lipidiques ou protéiques issus du fractionnement du co-produit de jambon, en particulier dans le domaine de l'aromatisation alimentaire

2.6. Conclusion

Le co-produit de jambon sec apparaît donc comme un gisement de matières premières biosourcées, renouvelable, concentré sur un site avec un flux journalier de 35 t/jour, obtenu dans des conditions de qualité alimentaire, et relativement stabilisé par comparaison aux co-produits de désossage de carcasses fraîches.

Bien que constitué d'un assemblage hétérogène de tissus (os et cartilage, reste de viande, de ligaments et tendons, matières grasses), l'analyse des principaux constituants permet de le considérer comme une source de trois fractions principales lipidiques, protéiques et minérales, qui représentent près de 90 % de sa matière sèche. Plusieurs constituants

minoritaires comme les GAG et les composés aromatiques pourraient aussi apporter une valeur ajoutée à ces fractions.

L'enjeu de notre projet est alors de proposer et mettre au point un nouveau procédé de fractionnement permettant de produire ces différentes fractions, dans des conditions techniquement acceptables par l'industrie de la transformation charcutière, économiquement attrayante par les débouchés potentiels de ces fractions, et peu impactante sur l'environnement pour s'intégrer dans la démarche de développement durable.

Un schéma conventionnel de fractionnement des co-produits de jambon sec pourrait être celui de l'extraction sélective des lipides par un solvant organique du type hexane ou n-hexane. Cette voie largement développée pour la production industrielle d'huiles végétales, directement ou après pressage de la graine oléagineuse pour épuiser le tourteau (Karleskind, 1992), outre le fait qu'elle nécessite la préparation de la matière et en particulier sa déshydratation, impose la mise en œuvre d'installations hautement sécurisées sur le plan des risques d'explosion et permettant un recyclage total du solvant, sans impact environnemental en particulier pour l'émission de COV. Par ailleurs le traitement thermomécanique de pressage, réalisé à haute température dans le cas de la fabrication des farines animales (§ 1.1.4.4) se traduit par une dénaturation des protéines qui pénalise leur extraction ultérieure et leurs applications.

Nous nous sommes donc orientés vers la mise au point d'un procédé de fractionnement aqueux, beaucoup moins contraignant pour sa mise en œuvre dans la filière de transformation charcutière, permettant une extraction simultanée d'une fraction lipidique et d'une fraction protéique en préservant les qualités de ces deux fractions, sans compromettre la valorisation du raffinat solide enrichi en minéraux, ni celle des constituants minoritaires co-extraits.

3. Etude du fractionnement aqueux des co-produits de jambon sec

Formé d'un assemblage hétérogène et complexe de constituants réputés peu ou pas solubles dans l'eau (30 à 35 % de matière grasse, 25 à 30 % de collagène et de fibres protéiques, 18 à 20 % de phosphate de calcium), le fractionnement des co-produits de jambon sec avec l'eau comme solvant d'extraction peut à priori apparaître comme une gageure. Cependant, trois points nous ont conduit à retenir cette voie pour la mise au point d'un nouveau procédé de valorisation de ces co-produits :

1) A la différence des solvants organiques, en particulier des solvants des lipides (hexane, cyclohexane, acétone, alcools, etc.), l'eau est un solvant parfaitement compatible avec les transformations agro-alimentaires, qui ne nécessite aucun classement chimique des installations, et dont le recyclage est parfaitement maîtrisé. L'impact environnemental d'un procédé aqueux se limite à celui du coût énergétique de la concentration des extraits et du séchage des raffinats, sans émissions de composés organiques autres que ceux naturellement présents dans la matière première extraite, à la différence du recyclage des solvants organiques, et à celui des effluents aqueux lorsque le recyclage de la totalité de l'eau n'est pas économiquement viable. Par ailleurs l'eau ne compromet pas les applications des extraits et raffinats dans le domaine agro-alimentaire ou non alimentaire, même si le contrôle de son activité pour la conservation, ou de sa teneur pour la transformation chimique ou physico-chimique, s'avère nécessaire.

2) Les technologies d'extraction aqueuse (lavage, cuisson, fabrication de bouillons, de concentrés aromatisants, etc.), de séparation liquide/solide (précipitation, démixtion, filtration, décantation, etc.), de concentration, purification et déshydratation (évaporation, ultrafiltration, chromatographie, atomisation, lyophilisation, etc.) sont connues et largement utilisées dans l'industrie agro-alimentaire, y compris pour la valorisation des co-produits de transformation des viandes, avec l'exemple du procédé de fonte humide (§ 1.1.5.2 Figure 1-16) ou la fabrication d'extraits protéiques aromatisants (Viandox de Knorr).

3) Mis en œuvre pour la transformation de graines oléagineuses comme celles du tournesol, riches en lipides (~49 %), en protéines (~16 %), et en fibres lignocellulosiques insolubles (~25 %), le fractionnement aqueux sous contrainte de cisaillement intense (Figure 3- 1) permet l'extraction de la quasi-totalité des lipides et des protéines, sous forme d'une

émulsion huile/eau stabilisée par une fraction des protéines, et d'une phase aqueuse contenant le restant des protéines et les hydrosolubles (Evon, 2008; Evon et al., 2007). Ce procédé permet en outre d'extraire simultanément les constituants minoritaires d'intérêt, qu'ils soient liposolubles ou hydrosolubles, ou amphotères, comme c'est le cas par exemple de l'azadirachtine de graine de Neem, connue pour son activité insecticide naturelle (Faye, 2011).

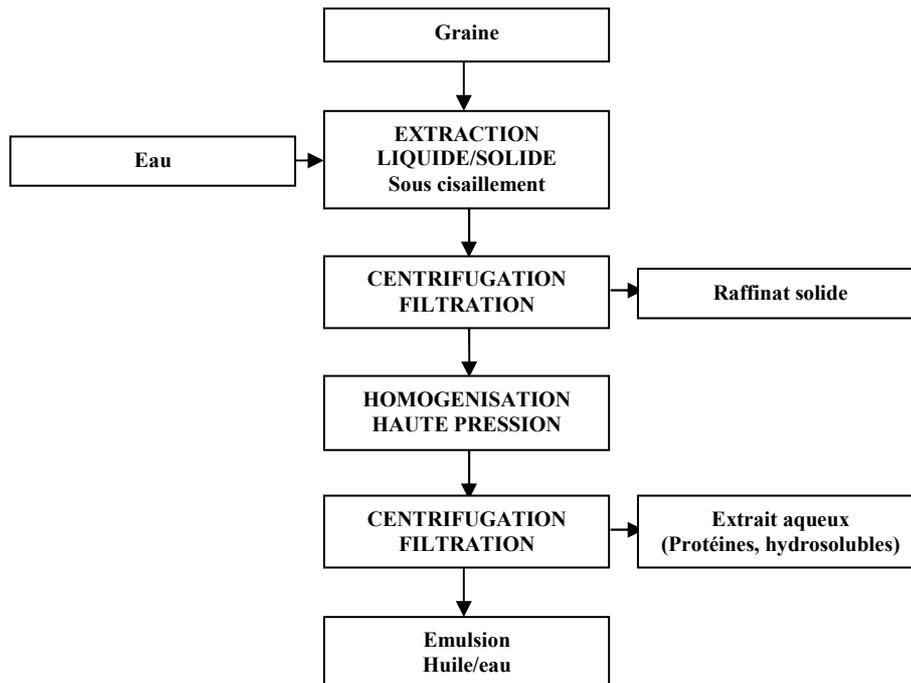


Figure 3- 1 : Fractionnement aqueux de graines d'oléagineux

Cependant les caractéristiques morphologiques, de composition chimique et d'organisation structurale des principaux constituants de co-produits de jambon sec sont très différentes de celles rencontrées dans le végétal :

4) Alors que dans les graines, ce sont les parois cellulaires, de nature fibreuses, qui forment la structure insoluble et déformable des contenus cellulaires, l'essentiel de la matrice des co-produits de jambon est un édifice minéral, poreux mais avec une large gamme de taille des pores, rigide et relativement friable.

5) Les lipides, en dehors de la fraction de matière grasse extérieure à l'os, minoritaire dans le cas du co-produit de jambon sec, sont associés à une matrice collagénique, de nature fibreuse et peu soluble. Par ailleurs, les matières grasses d'os sont solides à température ambiante (§ 1.3.2).

Ces différentes caractéristiques nécessitent donc plusieurs adaptations pour l'élaboration d'un procédé de fractionnement aqueux des co-produits de jambon sec. Toutes les matières premières traitées dans cette étude sont fournies par la société Aoste, sous forme de lots prélevés en sortie de l'atelier de désossage du jambon sec, et conditionnées à froid (+4 °C) en big-bag pour le transport.

3.1. Adaptation du procédé de fractionnement aqueux aux co-produits de jambon sec

Les essais préliminaires de cuisson des co-produits de jambon sec avec un ratio liquide/solide de 2,5, permettant de recouvrir tout le solide (21,5 kg de co-produit frais entier) par l'eau (64,5 kg), à 100 °C pendant 8 heures sans agitation, montrent qu'une fraction importante de matière sèche est entraînée dans la phase aqueuse séparée par filtration à chaud en fin de cuisson (Figure 3- 1).

Co-produit de jambon sec	Extrait liquide		Raffinat solide	
	kg MS	% MSi	kg MS	% MSi
17	4,8	28	11,2	66

Conditions opératoires : contacteur non agité, L/S=3, T=100 °C, 8 h

MS=matière sèche, MSi=matière sèche introduite

Tableau 3- 1 : Fractionnement aqueux de co-produit entier de jambon sec

Le gâteau solide séparé par filtration à chaud, qui représente plus de 66 % de la matière sèche introduite, est constitué d'os entier, de grands morceaux d'os, et de granulats plus ou moins agglomérés, parmi lesquels on peut identifier des morceaux de cartilages et des restes de viande et de tendons (Photographie 3- 1).



a) cartilage



b) agglomérats de viandes et tendons



c) os

Photographie 3- 1 : Matières solides obtenues par cuisson des co-produits entiers de jambon sec

La décantation à froid (+4 °C) du filtrat de filtration à chaud fait apparaître deux phases séparées par une interface plus sombre (Photographie 3- 2).



a) phase supérieure de décantation :
matière grasse



b) phase intermédiaire



c) phase inférieure de décantation :
phase aqueuse

Photographie 3- 2 : Phases de décantation du filtrat de cuisson de co-produits de jambon sec

Le dosage des constituants de ces différentes phases (partie expérimentale § 5.1) montre que (Tableau 3- 2) :

- la phase supérieure de décantation, à 80 % de matière sèche, contient majoritairement les matières grasses solidifiées à froid, et des traces de protéines,
- la phase inférieure, chargée à 6 % de matière sèche, dont la turbidité indique la présence d'insolubles entraînés sous forme de colloïdes ou de très fines particules en suspension, contient majoritairement des protéines, un peu de matière minérale et très peu de lipides.

Phase de décantation	Dénomination	Matière sèche (%)	Matière minérale (% MS)	Lipides (% MS)	Protéines (% MS)
Supérieure	Matière grasse	79	<0,05	99	1
Inférieure	Extrait protéique	6	12	3	70

Tableau 3- 2 : Composition des phases de décantation à froid de l'extrait aqueux de co-produit de jambon sec

La séparation par décantation à froid des lipides sous forme de matière grasse et des protéines sous forme d'un extrait protéique permet donc de proposer un schéma de procédé de fractionnement aqueux des co-produits de jambon sec nettement simplifié par rapport à celui développé pour les graines oléagineuse (Figure 3- 1) :

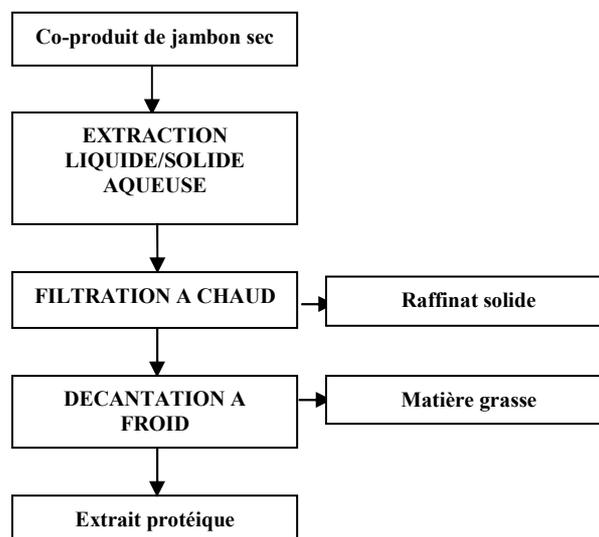


Figure 3- 2 : Schéma de fractionnement aqueux des co-produits de jambon sec

Cependant, le dosage des constituants du raffinat solide et des extraits montre que, dans les conditions opératoires mises en œuvre pour la cuisson des co-produits de jambon sec, les rendements d'extraction des lipides et des protéines sous forme d'extraits séparés sont limités (Tableau 3- 3). En particulier les lipides contenus dans la matrice osseuse sont peu accessibles et leur entraînement par l'eau est défavorisé. Le broyage des os permet d'améliorer ce résultat.

	Masse de sèche (g)	Composition		Rendement d'extraction	
		Lipides (% MS)	Protéines (% MS)	Lipides (% MSi)	Protéines (% MSi)
Co-produit de jambon sec entier	100	31	32	-	-
Granulat	16	46	44	7	7
Os entier	50	44	17	22	8
Matière grasse décantée	6,5	99	1	6	0,5
Phase aqueuse	22	3	70	0,5	15

Tableau 3- 3 : Rendement d'extraction des lipides et des protéines par cuisson des co-produits entiers de jambon sec

3.2. Broyage des co-produits de jambon sec

Bien que la matrice minérale de l'os soit peu dure et relativement friable, la présence de tissus mous et élastiques (restes du muscle, tendons et cartilages) associée à une teneur en eau résiduelle élevée (plus de 20 % d'eau) et de lipides (plus de 30 %) rend délicat le broyage des co-produits de jambon sec, du fait d'une forte tendance à l'agglomération des particules et au colmatage des grilles de classage. La mise en œuvre d'un broyeur à marteaux sans grille de classage nous a cependant permis de concasser les os. Il est réalisé sur des lots de 250 kg prélevés en sortie de l'atelier de désossage. Le broyeur à marteaux mis en œuvre est un broyeur Electra de type Goulu (Photographie 3- 3), équipé d'une grille à peignes écartés de 2,4 cm. Les morceaux obtenus ont une taille inférieure à 8 cm de long, avec 96 % de particules supérieures à 3 mm et moins de 4 % de fines (<2 mm) (Figure 3- 3).



Photographie 3- 3 : Broyeur à marteaux Electra Goulu

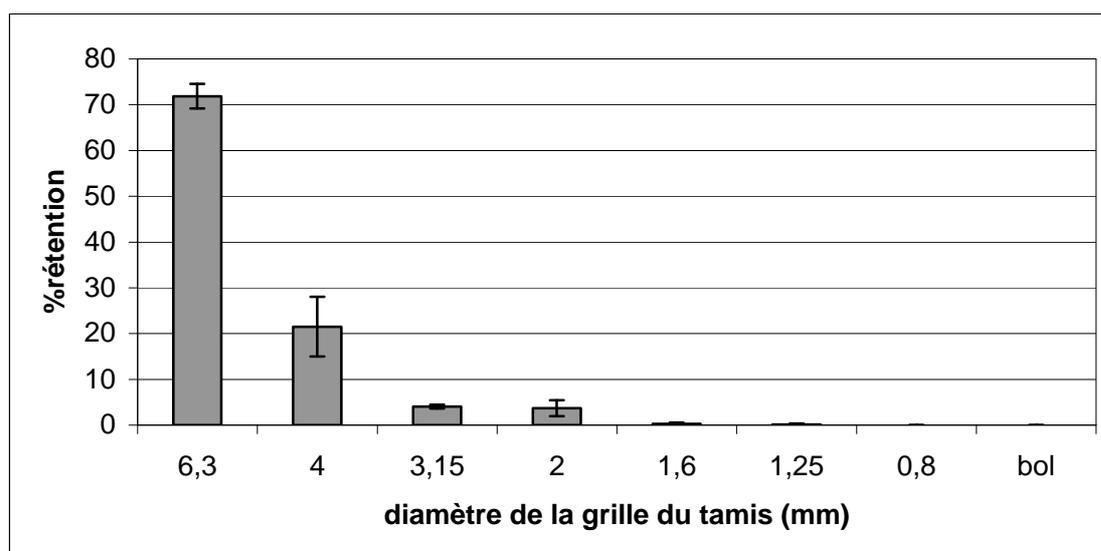


Figure 3- 3 : Répartition granulométrique des co-produits de jambon sec concassés au broyeur à marteaux Electra Goulu

La répartition des principaux constituants du co-produit de jambon sec concassé est donnée dans le Tableau 3- 4.

Matière sèche	Matière minérale	Lipides	Protéines	GAG
%	% MS	% MS	% MS	%o MS
77 ± 3	26 ± 4	31 ± 3	33 ± 5	15 ± 2

Tableau 3- 4 : Composition du co-produit de jambon sec concassé au broyeur à marteaux Electra Goulu.

Le fractionnement aqueux du co-produit de jambon sec concassé peut alors être réalisé dans un contacteur agité, avec un rapport liquide/solide minimum de 1 (en-dessous de ce rapport, l'agitation n'est pas possible), à 100 °C pendant 5 heures (Tableau 3- 5). Le raffinat solide séparé par filtration à chaud sous forme de granulat (Photographie 3- 4), contient 36 % des lipides et 41 % des protéines initialement présentes dans le co-produit, correspondant à un rendement d'extraction de 45 % de matière sèche, de 20 % de lipides et de 20 % de protéines. Le concassage des co-produits de jambon sec améliore donc sensiblement l'accessibilité des lipides et des protéines, et leur entraînement par l'eau, même pour le ratio liquide/solide minimum, limité à 1.

La décantation à froid du filtrat permet aussi de séparer un extrait sous forme de matière grasse solide (Photographie 3- 4), toujours très riche en lipides (98 % de la matière sèche) qui représente 15 % de la matière sèche du co-produit de jambon sec concassé. La phase aqueuse, chargée en matière sèche (18 %) contient des minéraux, un reste de lipides et

majoritairement des protéines, correspondant respectivement à 3, 5 et 17 % de la matière sèche du co-produit de jambon sec concassé.

	Masse de matière sèche (g/100 g de MS de co-produit)	Composition				Rendement d'extraction	
		MS (%)	MM (%MS)	L (%MS)	P (%MS)	Lipides (%MSi)	Protéines (%MSi)
Raffinat solide (granulat)	47	70	51	21	24	11	13
Matière grasse décantée	32	82	1	98	2	15*	1
Phase aqueuse (extrait protéique)	20	18	12	21	68	5	17*

*calculé par différence.

Conditions opératoires : co-produit de jambon sec concassé : 75 kg, contacteur agité, température 100 °C, 5 heures, ratio liquide/solide de 1.

Tableau 3- 5 : Fractionnement aqueux du co-produit de jambon sec concassé en extracteur agité.



a) raffinat solide séparé par filtration à chaud



b) matière grasse solide décantée à froid

Photographie 3- 4 : Fractions solides du co-produit de jambon sec concassé après extraction

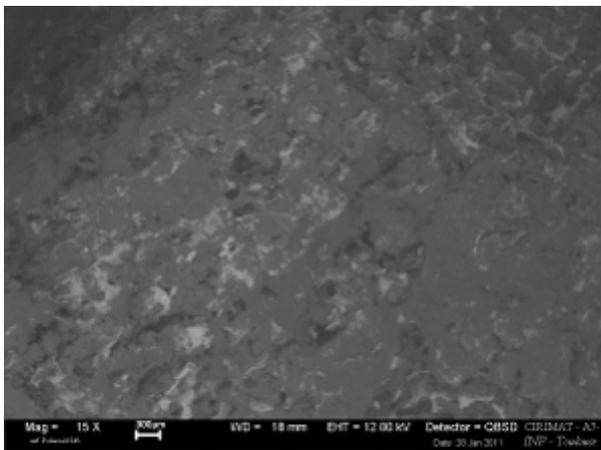
Le procédé de fractionnement aqueux des co-produits de jambon sec concassés permet donc d'obtenir trois fractions :

1) un raffinat solide, sous forme de granulats, qui contient majoritairement la fraction minérale des os. L'observation au microscope électronique à balayage (partie expérimentale § 5.4.3) des morceaux d'os avant et après traitement d'extraction à l'eau (Photographie 3- 5) révèle la structure alvéolaire de la matrice osseuse dont les tissus organiques ont été extraits. L'entraînement et la solubilisation des lipides et des protéines ne

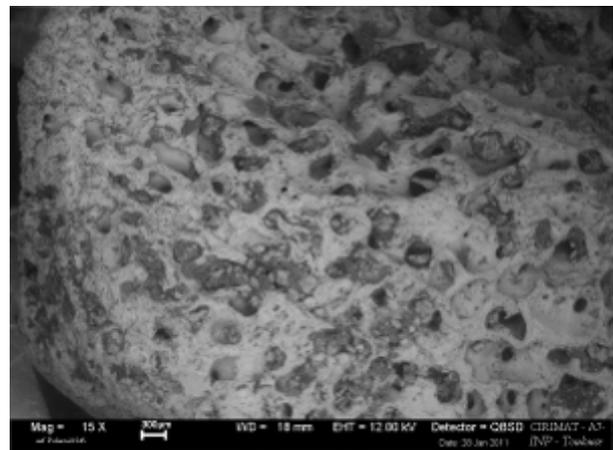
sont cependant pas complets dans les conditions de l'essai, comme le montre le dosage des constituants résiduels et la persistance de zones brunes à l'intérieur de certains pores (Photographie 3- 6).

2) un extrait sous forme de matières grasses solides, obtenu par décantation du filtrat à froid, très riche en lipides entraînés par l'eau. Relativement coloré par comparaison avec une matière grasse isolée dans les mêmes conditions à partir d'un co-produit de jambon frais (Photographie 3- 7), sa texture assez homogène s'apparente à celle d'une crème solide

3) un extrait aqueux issu de la décantation, qui contient la majeure partie des protéines solubilisées ou entraînées par le traitement aqueux. Il contient aussi une faible fraction de lipides qui n'ont pas décanté et des minéraux, ainsi que des hydrosolubles. La lyophilisation de cet extrait conduit à un solide fibreux texturé (Photographie 3- 8).

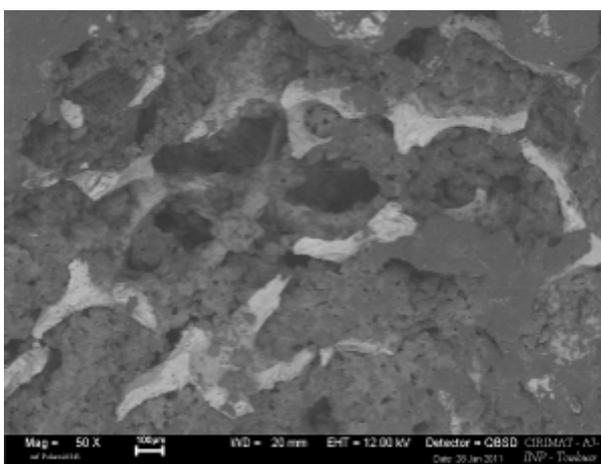


a) morceau d'os avant traitement

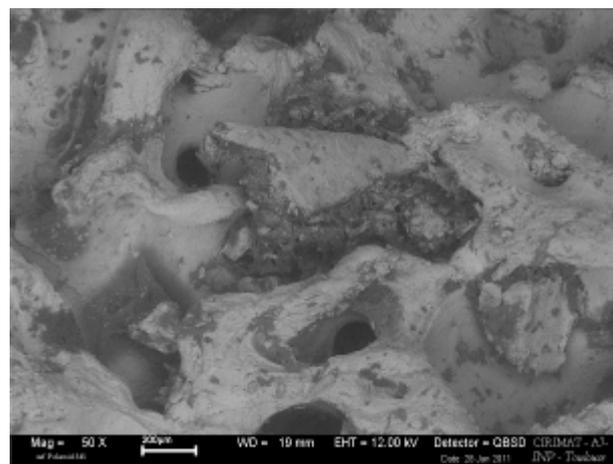


b) morceau d'os après traitement

Photographie 3- 5 : Morceaux d'os avant et après traitement aqueux, grossissement 15



c) morceau d'os avant traitement



d) morceau d'os après traitement

Photographie 3- 6 : Morceaux d'os avant et après traitement aqueux, grossissement 50



Photographie 3- 7 : Matière grasse solide isolée du co-produit de jambon frais



Photographie 3- 8 : Solide fibreux texturé obtenu par lyophilisation de l'extrait aqueux

La répartition des trois fractions ainsi que leur composition, qui déterminent leurs propriétés physico-chimiques et fonctionnelles, seront dépendantes des conditions opératoires du fractionnement aqueux.

3.3. Etude de l'influence des principaux facteurs sur le fractionnement aqueux des co-produits de jambon sec

De nombreux facteurs sont susceptibles d'influencer l'entraînement des lipides et la solubilisation des protéines lors de la mise en contact du co-produit de jambon sec avec l'eau.

3.3.1. La granulométrie du solide

Comme pour la plupart des systèmes d'extraction liquide/solide, la granulométrie des particules solides est un facteur déterminant sur les cinétiques d'extraction de solutés. Elle agit directement sur les surfaces d'échange entre le liquide et le solide, mais aussi dans le cas

des matières végétales, et du fait de l'action mécanique de broyage, sur la déstructuration des tissus cellulaires, voire la rupture des parois, rendant accessible les contenus cellulaires. Dans notre cas, et comme l'ont montré les essais préliminaires, le concassage des os au broyeur à marteaux rend plus accessible la moelle et la surface interne poreuse de la matière minérale osseuse. La pulvérisation de la matrice osseuse permettrait théoriquement d'améliorer ces résultats. C'est d'ailleurs le cas pour l'extraction des matières grasses dans les procédés de fabrication de farines animales (§ 1.1.4.4), mais qui requièrent une cuisson à haute température et un pressage pour entraîner les lipides.

Par ailleurs, les essais de rebroyage au broyeur à couteaux (broyeur Fritsch de type Pulverisette 15) équipé d'une grille de 1 cm, n'ont permis qu'une relativement faible augmentation de la proportion de fines particules (Figure 3- 4) qui correspondent à des fragments d'os et de viandes agglomérés par des corps gras. Bien que le rendement en matière sèche extraite en 5 heures à 90 °C avec un ratio liquide/solide de 1 soit équivalent (48 %), les rendements d'extraction en lipides et en protéines sont plus faibles que ceux obtenus pour une température plus élevée (100 °C) avec le co-produit de jambon concassé (Tableau 3- 6).

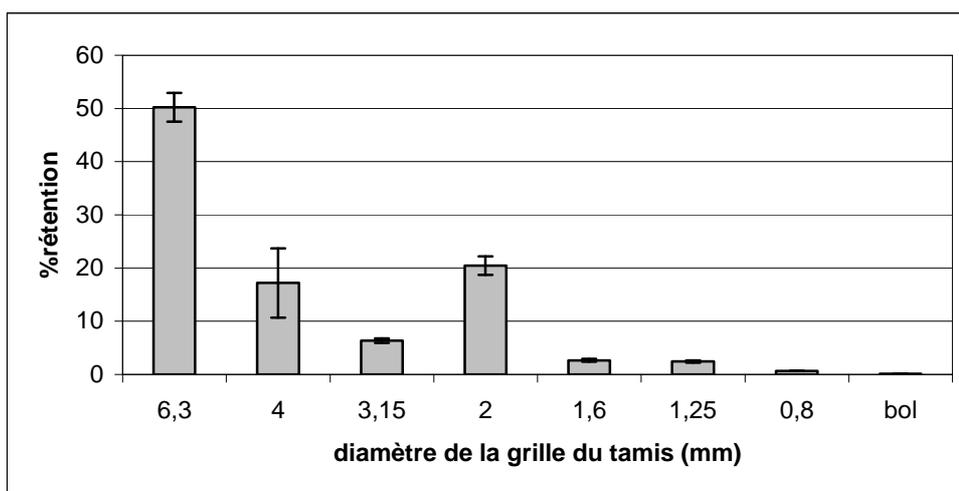


Figure 3- 4 : Répartition granulométrique des co-produits de jambon sec concassés et broyés au broyeur à couteaux

	Masse de matière sèche (g/100 g de MS de co-produit)	Composition				Rendement d'extraction	
		MS (%)	MM (%MS)	L (%MS)	P (%MS)	Lipides (%MSi)	Protéines (%MSi)
Raffinat solide (granulat)	52	96	46	30	36	16	19
Matière grasse décantée	20	45	1	89	9	13*	2
Phase aqueuse (extrait protéique)	27	19	2	8	89	2	12*

*calculé par différence.

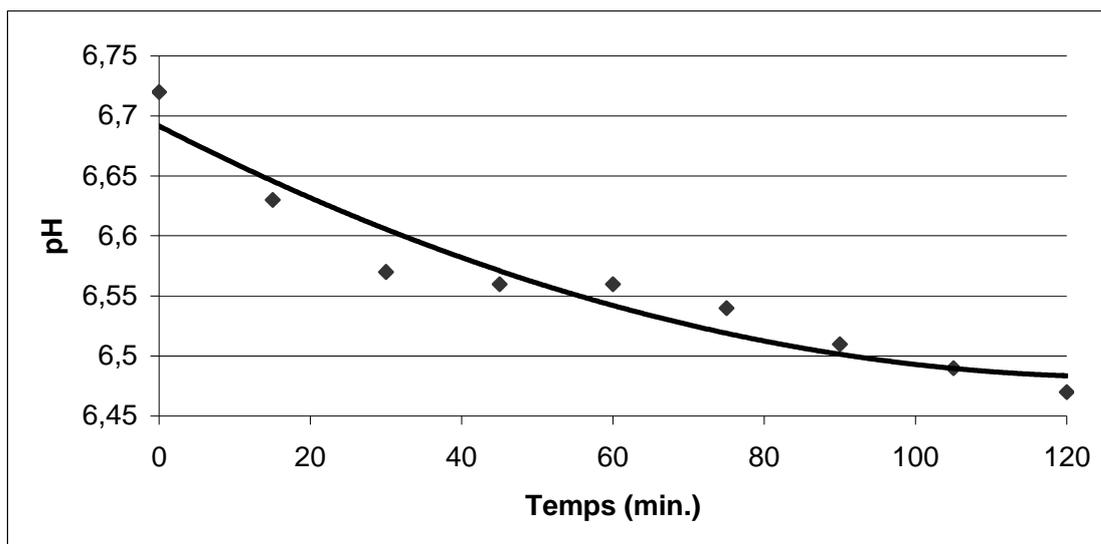
Conditions opératoires : co-produit de jambon sec concassé : 1 kg, contacteur agité, température 90 °C, 5 heures, ratio liquide/solide de 1.

Tableau 3- 6 : Fractionnement aqueux du co-produit de jambon sec concassé et rebroyé au broyeur à couteaux en extracteur agité.

Le surcoût généré par un broyage plus fin des os associé à la difficulté de sa mise en œuvre nous a conduits à retenir le co-produit de jambon sec concassé au broyeur à marteaux pour la suite de notre étude.

3.3.2. La nature du solvant de fractionnement

La solubilité des protéines est sensible au pH de la phase aqueuse (Boles et al., 2000; McCurdy et al., 1987) et elle est favorisée par un pH alcalin. Cependant la présence de matière grasse dans le co-produit de jambon sec se traduira par une saponification des triglycérides et la neutralisation des acides gras libres en milieu alcalin, défavorisant leur séparation par décantation à froid. Par ailleurs un milieu alcalin favorise la dénaturation des protéines pouvant aller jusqu'à l'hydrolyse en polypeptides. C'est donc l'eau déminéralisée, à pH de 6,7, qui a été retenue comme solvant d'extraction. Au cours de l'extraction, le pH du milieu diminue très légèrement jusqu'à une valeur de 6,5 (Figure 3- 5), du fait probablement de l'entraînement des acides aminés et d'acides gras libres.



conditions opératoires : contacteur agité, T=65 °C, L/S = 7

Figure 3- 5 : Evolution type du pH de la phase aqueuse du milieu au cours de l'extraction aqueuse de co-produits de jambon sec broyé.

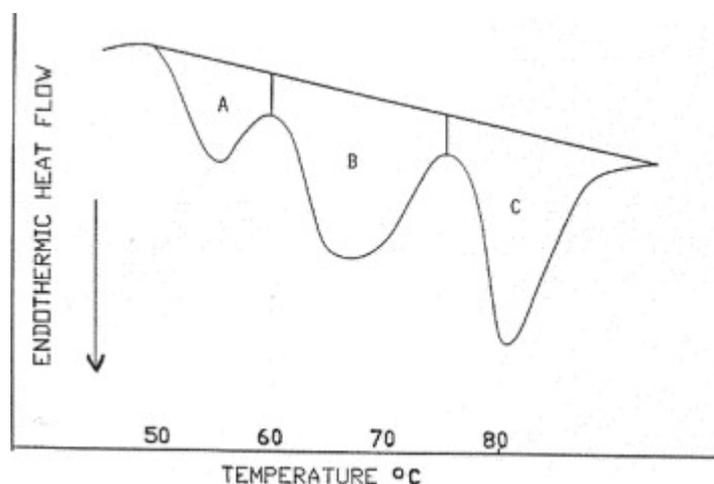
3.3.3. La température, le ratio liquide/solide et la durée de contact

La température du milieu est aussi un facteur déterminant pour l'extraction :

- d'une part les matières grasses de co-produit de jambon sec deviennent liquides au-delà de 40 °C, et pourront alors être entraînées sous forme de dispersion de gouttelettes dans la phase aqueuse,

- et d'autre part, dans la gamme de 40 à 90 °C, les protéines sont susceptibles de se dénaturer, au sens d'une désorganisation des structures quaternaires voire tertiaires avec redéploiement des chaînes polypeptidiques, susceptible de les rendre plus solubles dans l'eau, ou selon leur nature et la température, de favoriser leur agglomération conduisant à une insolubilisation. Les changements de conformation des protéines sous l'effet d'une élévation de la température conduisent à une perte de la structure hélicoïdale, au déroulement des protéines et une augmentation de leur hydrophobicité de surface, conduisant à favoriser les interactions protéine-protéine et donc leur agglomération (Tornberg, 2005). La vitesse de montée en température agit également sur l'activité des protéines. C'est le cas par exemple des protéines enzymatiques comme la collagénase, inactivée par une chauffe rapide jusqu'à des températures de 70 à 80 °C, alors qu'une chauffe lente inférieure à 60 °C favorise leur activité (Laakkonen et al., 1970). De même, les différentes protéines de muscle ont des températures de transition déterminées par analyse enthalpique différentielle (DSC)

différentes (Figure 3- 6) traduisant la sensibilité de leur configuration à ce facteur (Findlay et al., 1986)

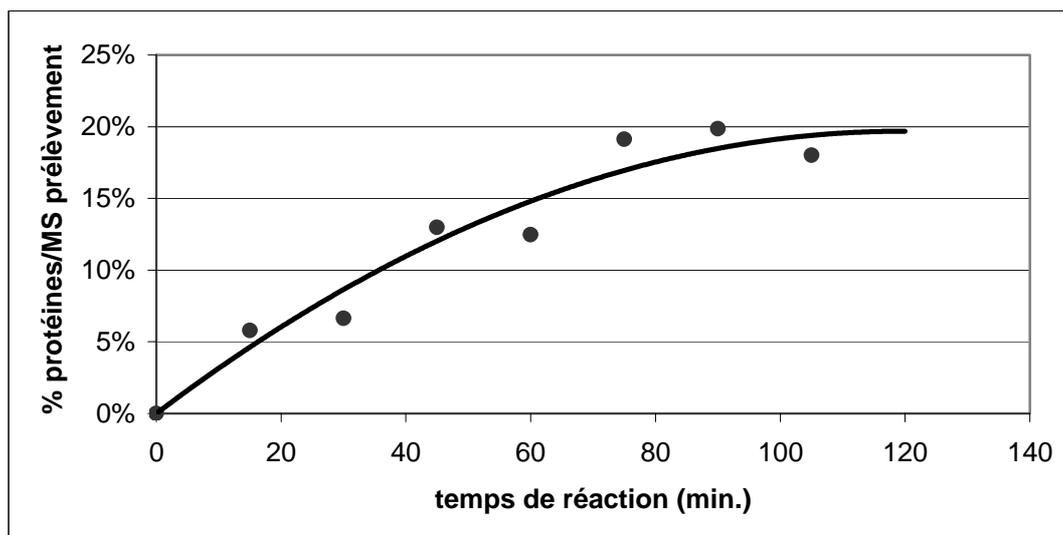


Zone A : sous-unité de myosine ; zone B : protéines sarcoplasmiques et collagène ; zone C : actine

Figure 3- 6 : Thermogramme typique obtenu par analyse enthalpique différentielle sur un muscle de mammifère (Tornberg, 2005)

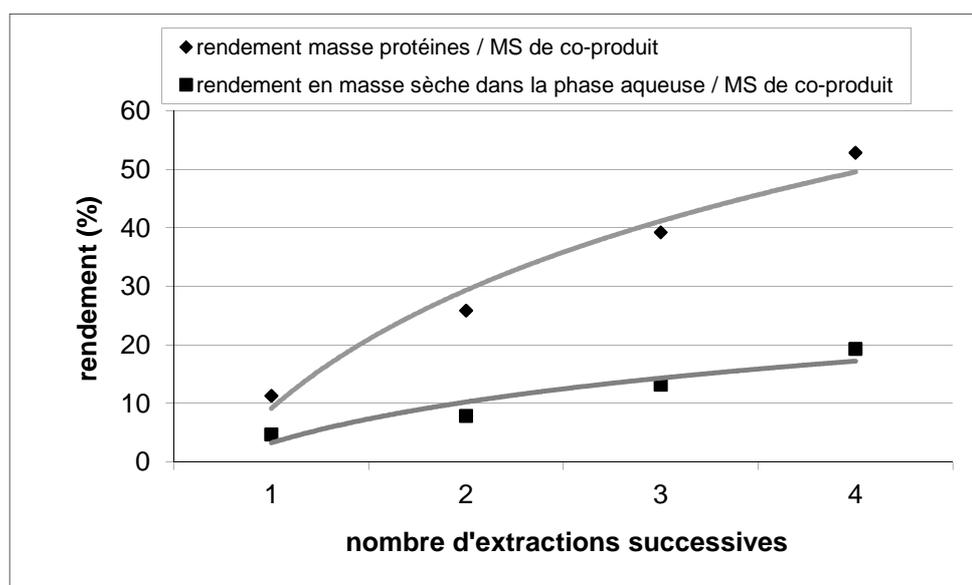
Remarquons cependant que ces données acquises pour des matières musculaires fraîches ne préjugent pas de l'effet de la température sur la solubilité des protéines du co-produit de jambon sec dans la mesure où celles-ci ont subi un prétraitement de salaison au chlorure de sodium connu pour modifier leur solubilité (Hamm, 1986; Zayas, 1997).

La dilution du milieu d'extraction est un facteur favorable à l'extraction des protéines (Thomas et al., 2007). Ainsi, pour un ratio eau/co-produit de jambon sec concassé de 7, à 65 °C, sous une agitation suffisante pour assurer la mise en suspension homogène du solide dans la phase aqueuse (vitesse de la pale d'agitation fixée à 200 tr/min), les protéines sont effectivement progressivement extraites en 2 heures (Figure 3- 7). Au-delà de ces temps de contact, les protéines auraient tendance à s'agglomérer sous forme insoluble, se traduisant par un palier de rendement d'extraction (Peyron et al., 2006). Cependant, ce palier de rendement peut aussi traduire l'équilibre de solubilité des protéines dans l'eau. En effet, le recyclage de la phase aqueuse après décantation des matières grasses pour l'extraction de nouveaux lots de co-produit de jambon sec concassé montre que le rendement d'extraction des protéines tend à diminuer progressivement (Figure 3- 8).



Conditions opératoires : co-produit de jambon sec concassé : contacteur agité, T=65 °C, L/S = 7

Figure 3- 7 : Evolution de la teneur en protéines dans la phase aqueuse en fonction du temps lors du fractionnement aqueux du co-produit de jambon sec concassé.



Conditions opératoires de chaque extraction : co-produit de jambon sec concassé, 500 g, contacteur agité, température 40 °C, 90 min, L/S=4

Figure 3- 8 : Evolution du rendement d'extraction des protéines en fonction du recyclage de la phase aqueuse décantée pour le fractionnement aqueux des co-produits de jambon sec concassés.

Ces trois facteurs agissent donc sur l'entraînement des lipides et la solubilisation et l'extraction des protéines lors du fractionnement aqueux. Mais les deux processus ne semblent pas indépendants, en particulier pour la moelle osseuse :

1) A 40 °C, et pour un ratio liquide/solide de 4 et un temps de contact de 90 minutes, une nouvelle extraction sur un même lot de co-produit de jambon sec concassé ne permet pratiquement pas d'améliorer le rendement d'extraction des lipides (Tableau 3- 7).

Extraction	Masse de matière sèche (g/100 g de MS de co-produit)			Rendement lipides (% MSi)			Rendement protéines (% MSi)		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Raffinat solide (granulat)	68	90	98	14*	11*	10*	26*	23*	20*
Matière grasse décantée	15	3	0	15	2	1	0	0	0
Phase aqueuse (extrait protéique)	11	5	3	2	1	0	5	2	1

*calculé par différence

Conditions opératoires : co-produit de jambon sec concassé 500 g, contacteur agité, T=40 °C, L/S=4, 90 min.

Tableau 3- 7 : Extraction répétée du co-produit de jambon sec concassé

Une température de 40 °C permettrait l'entraînement de près de la moitié des lipides contenus dans le co-produit, mais serait insuffisante pour solubiliser suffisamment de protéines, ce qui empêcherait l'accès de l'eau au restant des matières grasses (moins de 30 % des protéines extraites en trois extractions)

2) A 60 °C, pour un rapport liquide/solide de 1,5 et une durée de 150 min, en présence d'une protéase (alcalase 2.4L, Novozymes, Danemark), à pH 8, le rendement d'extraction des lipides atteint plus de 60 % des lipides du co-produit, pour une extraction de plus de 40 % des protéines (Tableau 3- 8).

	Masse de matière sèche (g/100 g de MS de co-produit)	Composition				Rendement d'extraction	
		MS (%)	MM (%MS)	L (%MS)	P (%MS)	Lipides (%MSi)	Protéines (%MSi)
Raffinat solide	49	92	46	25	-	12	20
Matière grasse décantée	19	63	0	99	4	19	1
Phase aqueuse	21	12	2	-	64	2*	13

*estimé par différence

Conditions opératoires : co-produit de jambon sec concassé 1 kg, alcalase 2,4L à 5 mg/g de matière sèche, température 60 °C, L/S 1,5, pH=8 durée 150 min. L'enzyme est inactivée en fin d'extraction par un traitement à 80 °C pendant 10 min.

Tableau 3- 8 : Fractionnement aqueux du co-produit du jambon sec concassé en présence d'une protéase

La déstructuration des protéines par hydrolyse enzymatique favoriserait l'extraction des protéines et l'entraînement d'une plus forte proportion de lipides

3) A 90 °C, pour un rapport liquide/solide élevé (8 et 6), en 5 heures, le rendement d'extraction des protéines d'un co-produit de jambon sec dont les lipides ont préalablement extrait par le cyclohexane, paraît dépendant de la teneur en lipides résiduels et du prétraitement (broyage et séchage) (Tableau 3- 9).

Prétraitement du co-produit de jambon sec concassé	Fraction	Masse de matière sèche (g/100 g de MS de co-produit)	Composition				Rendement d'extraction (% MSi)
			MS (%)	MM (% MS)	L (% MS)	P (% MS)	
Extraction à l'hexane	Raffinat solide (a)	65	89	54	10	49	24
	Phase aqueuse	34	4	0	5	-	9*
Broyage, Séchage	Raffinat solide (b)	66	98	59	9	51	17
Extraction à l'hexane	Phase aqueuse	33	6	0	3	92	16

*calculé par différence

Conditions opératoires : co-produit de jambon sec concassé, contacteur agité, T = 90 °C, 5 heures, a) L/S = 8, b) L/S = 6.

Tableau 3- 9 : Extraction aqueuse de co-produit de jambon sec concassé prétraité par extraction au cyclohexane

La teneur en lipides résiduels dans le raffinat solide montre que même par extraction au cyclohexane, la totalité des matières grasses contenues dans le co-produit de jambon sec n'est pas accessible. Par ailleurs, malgré ce traitement d'extraction des lipides par percolation au cyclohexane à 80 °C pendant 6 heures, qui est susceptible de les dénaturer, près de 50 % des protéines sont encore extractibles par l'eau à 90 °C avec un ratio liquide/solide élevé.

En conclusion, le fractionnement aqueux des co-produits de jambon sec ferait donc intervenir plusieurs processus élémentaires :

— **la diffusion de l'eau à travers l'interface solide/liquide et dans le solide hétérogène que constitue le co-produit concassé.** La présence d'une forte proportion de lipides peut-être à l'origine d'une forte limitation diffusionnelle à l'interface solide/liquide,

— **la solvatisation des protéines et leur solubilisation, ainsi que celle des composés hydrosolubles.** La solvatisation du réseau des protéines fibreuses du collagène permettrait leur solubilisation progressive, et probablement la libération des gouttelettes lipidiques de la moelle,

— **la dispersion dans l'eau des matières grasses fondues et leur entraînement vers l'extérieur du solide.** Dans ce processus, l'effet tensioactif de certains lipides, notamment des diglycérides (Krog, 1981) ou des protéines solubilisées (Fox et al., 1982) est susceptible de jouer un rôle en favorisant l'entraînement des gouttelettes lipidiques, voire en stabilisant l'émulsion formée dans l'eau. L'origine et la localisation des lipides dans les constituants du co-produit de jambon sec seront aussi déterminantes pour leur extraction,

— **la diffusion des solutés et en particulier des protéines solubilisées vers la phase liquide à l'extérieur du solide.** Sous l'effet de la température, les protéines sont aussi susceptibles de coaguler, ce qui limitera leur solubilisation et leur entraînement à l'extérieur du solide.

Le caractère hétérogène du milieu d'extraction associé à la complexité des phénomènes susceptibles d'y intervenir rend difficile le suivi cinétique direct de l'extraction en fonction des différents facteurs et sa modélisation à partir des équations connues de transfert de matière. C'est pourquoi nous avons choisi d'étudier l'influence des trois facteurs température, rapport liquide/solide et durée de contact grâce à la réalisation d'un plan d'expérience permettant l'étude des surfaces de réponse.

3.4. Etude de l'influence de la température, du ratio liquide/solide et de la durée de contact sur l'extraction des lipides, des protéines et des GAG du co-produit du jambon sec

3.4.1. Choix du protocole et du domaine expérimental

Le co-produit de jambon sec concassé au broyeur à marteaux est introduit avec l'eau dans un contacteur thermostaté d'une capacité de 5 l et maintenu sous agitation (vitesse de rotation de l'agitateur à pales 200 tr/min assurant la mise en suspension du solide dans le liquide) à la température choisie.

Le rapport liquide/solide est défini par la masse d'eau introduite rapporté à la masse fraîche du co-produit de jambon sec concassé. Au bout de la durée de contact sélectionnée, le milieu réactionnel est filtré à chaud (température du milieu réactionnel) sur une toile de maille 100 μm pour séparer le gâteau solide dont la masse et la composition sont déterminées. Le filtrat est décanté à froid (+4 °C pendant 12 heures) pour séparer les matières grasses de la phase aqueuse, dont les masses et compositions sont déterminées (partie expérimentale § 5.1).

A partir des bilans matière, et de la composition du co-produit de jambon sec concassé (Tableau 3- 4), les réponses suivantes sont calculées :

1) R_{MSE} , le rendement en matière sèche extraite du co-produit de jambon sec concassé et séparé par filtration à chaud, défini par le rapport $M_{SF}-M_{SCI}/M_{SCI} \times 100$ avec M_{SF} la masse de raffinat sec et M_{SCI} la masse de co-produit de jambon concassé sec,

2) R_{MGSD} , le rendement en matière sèche de matière grasse extraite et décantée défini par le rapport $M_{GSD}/M_{SCI} \times 100$ avec M_{GSD} la masse de matière sèche de matière grasse décantée et séparée de la phase liquide,

3) R_{MSSF} , le rendement en matière sèche extraite et séparée dans la phase aqueuse de décantation des matières grasses, définie par le rapport $M_{SSF}/M_{SCI} \times 100$ avec M_{SSF} la masse de matière sèche recueillis dans la phase aqueuse de décantation,

4) R_L , le rendement en lipides entraînés à chaud et séparés sous forme de matière grasse par décantation à froid, défini par le rapport $M_{GSD} \times L_{MG}/M_{SCI} \times 100$ avec L_{MG} la teneur en lipides de la matière sèche de matière grasse décantée (M_{GSD}),

5) R_P , le rendement en protéines extraites à chaud et séparées dans la phase aqueuse de décantation des matières grasses à froid, défini par le rapport $M_{SSF} \times P_F / M_{SCI} \times 100$, avec P_F la teneur en protéines dans la matière sèche de la phase aqueuse de décantation (M_{SSF}),

6) R_{GAG} , le rendement en glycosaminoglycannes récupérés dans la phase aqueuse de décantation des matières grasses, défini par le rapport $M_{SSF} \times GAG / M_{SCI} \times 100$, avec GAG la teneur en glycosaminoglycannes dans la matière sèche de la phase aqueuse (M_{SSF}).

Le domaine expérimental choisi pour étudier l'influence de la durée de contact, la température et le ratio liquide/solide sur ces réponses est rapporté dans le tableau 3-10.

Facteurs	Unités	Centre d'intérêt	Pas de variation
		U_i°	ΔU_i
Durée	Min	60	30
Température	°C	65	25
Ratio liquide/solide	l/kg	7	3

Tableau 3- 10 : Domaine expérimental pour l'étude de l'influence de la température, du ratio liquide/solide et de la durée de contact sur l'extraction aqueuse des lipides et des protéines du co-produit de jambon sec concassé

Notre objectif, à travers l'étude de l'influence de ces trois facteurs, est de définir les conditions opératoires de l'ensemble du procédé de fractionnement aqueux du co-produit de jambon sec pour produire les deux extraits, matière grasse et protéines solubles, et le raffinat solide, en vue d'en étudier les caractéristiques et les propriétés. C'est pourquoi nous avons choisi de réaliser un plan d'expérience permettant de corrélérer les réponses étudiées aux trois facteurs sous forme d'équations polynomiales du second degré de type :

$$Y_{\text{réponse}} = b_0 + b_1 X_I + b_2 X_T + b_3 X_{L/S} + b_{11} X_I^2 + b_{22} X_T^2 + b_{33} X_{L/S}^2 + b_{12} X_I X_T + b_{13} X_I X_{L/S} + b_{23} X_T X_{L/S}$$

Avec $X_I = (U_I - U_I^\circ) / \Delta U_I$, coordonnées codées, U_I coordonnées réelles, U_I° coordonnées du centre du domaine et ΔU_I pas de variation des coordonnées réelles dont les valeurs sont données dans le Tableau 3- 10.

Comme l'illustre la courbe d'évolution de l'extraction des protéines en fonction du temps, pour une température de 65 °C et un ratio liquide/solide de 7 (centre du domaine expérimental - Figure 3- 7), un tel modèle simplifié pourra permettre une représentation de l'évolution des réponses dans l'ensemble du domaine expérimental, sous forme de surfaces de

réponse, dès lors qu'une bonne estimation des coefficients de l'équation polynomiale sera obtenue.

Parmi les nombreuses matrices d'expériences construites pour obtenir les meilleures estimations des coefficients (Goupy, 1988), nous avons choisi de réaliser une matrice composite centrée pour 3 facteurs (Tableau 3- 11).

Essai\Coordonnées	X ₁	X ₂	X ₃
P1	-1	-1	-1
P2	+1	-1	-1
P3	-1	+1	-1
P4	+1	+1	-1
P5	-1	-1	+1
P6	+1	-1	+1
P7	-1	+1	+1
P8	+1	+1	+1
P9	-1,682	0	0
P10	+1,682	0	0
P11	0	-1,682	0
P12	0	+1,682	0
P13	0	0	-1,682
P14	0	0	+1,682
P15	0	0	0
P16	0	0	0
P17	0	0	0

Tableau 3- 11 : Matrice d'expériences composite centrée pour 3 facteurs

Les essais sont réalisés en chacun des points expérimentaux définis par cette matrice d'expériences (Tableau 3- 12), exception faite du point P12 de coordonnées (0, +1,682, 0) dont la température correspondrait à une température supérieure à celle de l'ébullition de l'eau à pression atmosphérique dans le contacteur agité. Les coordonnées de ce point ont donc été corrigées à 0, +1,4, 0, soit 60 min., 100 °C, 7 l/kg.

Le dosage des constituants du raffinat et des extraits séparés pour les 17 expériences définies par ce plan (Tableau 3- 13), permettent de calculer en chaque point les réponses étudiées.

Essai\Coordonnées	U₁ Durée (min.)	U₂ Température (°C)	U₃ Ratio liquide/solide (l/kg)
P1	30	40	4
P2	90	40	4
P3	30	90	4
P4	90	90	4
P5	30	40	10
P6	90	40	10
P7	30	90	10
P8	90	90	10
P9	10	65	7
P10	110	65	7
P11	60	23	7
P12	60	100	7
P13	60	65	2
P14	60	65	12
P15	60	65	7
P16	60	65	7
P17	60	65	7

Tableau 3- 12 : Conditions opératoires réelles des points expérimentaux du plan d'expériences

Essai	Raffinat solide					Matière grasse décantée					Phase aqueuse				
	Masse (g)	MS (%)	MM (%MS)	L (%MS)	P (%MS)	Masse (g)	MS (%)	MM (%MS)	L (%MS)	P (%MS)	Masse (g)	MS (%)	MM (%MS)	L (%MS)	P (%MS)
P1	250	95	40	27	27	90	33	2	93	2	1810	7	8	71	24
P2	250	97	41	31	36	75	47	8	71	2	1825	6	11	68	25
P3	225	94	54	13	32	410	36	0	86	3	1475	2	3	25	47
P4	242	98	46	21	34	231	36	1	93	6	1693	3	20	38	42
P5	278	94	51	16	41	119	38	2	96	3	4403	1	32	31	46
P6	265	96	43	16	55	30	65	0	70	10	4450	2	0	21	67
P7	120	96	44	16	32	45	66	0	99	0	2155	2	0	42	45
P8	260	88	50	11	11	145	56	5	96	2	4252	2	25	51	44
P9	278	98	45	18	29	123	44	1	94	4	2942	1	30	28	46
P10	200	86	56	13	33	224	59	2	67	3	3282	3	24	17	57
P11	295	97	53	9	33	106	61	2	91	5	3164	1	32	33	50
P12	225	86	54	19	32	145	62	2	90	1	3155	3	27	40	29
P13	280	70	41	22	39	169	62	2	95	3	835	7	32	35	44
P14	141	82	48	18	34	61	63	1	99	2	2818	1	24	34	44
P15	215	89	47	16	35	200	59	2	94	4	3295	3	36	29	36
P16	285	64	39	28	37	210	65	1	72	2	3275	2	18	29	56
P17	225	82	50	15	35	230	54	2	75	2	3245	3	16	33	52

Conditions opératoires : co-produit de jambon sec concassé : 500 g pour l'ensemble des points et 250 g pour les points 7 et 14

Tableau 3- 13 : Résultats du dosage des extraits et raffinats du fractionnement aqueux du co-produit de jambon sec concassé pour la réalisation du plan d'expériences composite centré.

3.4.2. Dépouillement du plan d'expérience

La réalisation des 17 expériences définies par le plan d'expériences composite centré permet d'écrire pour chaque réponse étudiée un système de 17 équations linéaires par rapport aux 10 inconnues que constituent les coefficients du modèle polynomial du second degré. Les estimations des coefficients sont obtenues par la méthode de régression des « moindres carrés » (partie expérimentale § 5.5).

Les équations ainsi obtenues sont :

$$R_{MSE} = 52,3 + 2,7X_t + 3,8X_T - 2,1X_{L/S} - 3,8X_t^2 - 6,5X_T^2 - 3,0X_{L/S}^2 - 0,9X_tX_T + 1,5X_tX_{L/S} + 0,9X_TX_{L/S}$$

$$R_{MGSD} = 32,1 + 1,1X_t + 5,1X_T - 2,6X_{L/S} - 3,9X_t^2 - 5,6X_T^2 - 4,1X_{L/S}^2 - 0,7X_tX_T + 1,7X_tX_{L/S} - 3X_TX_{L/S}$$

$$R_{MSSF} = 22 + 1,9X_t - 0,1X_T - 0,3X_{L/S} - 1X_t^2 - X_T^2 - 1,4X_{L/S}^2 - 0,9X_tX_T - 0,4X_tX_{L/S} + 7,4X_TX_{L/S}$$

$$R_L = 26,4 + 1,2X_t + 4,3X_T - 0,9X_{L/S} - 4,0X_t^2 - 4,3X_T^2 - 2,2X_{L/S}^2 + 1,7X_tX_T + 0,5X_tX_{L/S} - 0,5X_TX_{L/S}$$

$$R_P = 10,4 + 1,6X_t + 0,0X_T + 1X_{L/S} - 0,4X_t^2 - 1,7X_T^2 - 1X_{L/S}^2 - 1,4X_tX_T + 0,3X_tX_{L/S} + 1,3X_TX_{L/S}$$

$$R_{GAG} = 1,84 + 0,36X_t + 0,26X_T - 0,22X_{L/S} + 0,0X_t^2 + 0,13X_T^2 + 0,04X_{L/S}^2 + 1,27X_tX_T - 0,64X_tX_{L/S} + 0,28X_TX_{L/S}$$

La comparaison des résultats expérimentaux avec les réponses calculées grâce à ces équations (Tableau 3- 14) révèle des écarts en certains points supérieurs à l'écart type pour chaque réponse, calculé à partir de la répétition du point central du domaine (Tableau 3- 15). Ce qui indiquerait qu'un modèle polynomial du second degré est insuffisant pour décrire de façon totalement satisfaisante les variations des réponses étudiées en fonction des trois facteurs dans l'ensemble du domaine expérimental. Les écarts types calculés pour chaque réponse à partir des résidus, qui sont nettement plus élevés que ceux calculés à partir des essais de reproductibilité (Tableau 3- 16), permettent cependant de définir les limites de l'exploitation de ces équations comme modèle prévisionnel à partir de l'étude des courbes d'isoréponses.

	Conditions opératoires			R _{MSE}			R _{MGSD}			R _{MSSF}			R _L			R _P			R _{GAG}		
	t (min.)	T (°C)	L/S	Exp.	Calc	Δ	Exp.	Calc	Δ	Exp.	Calc	Δ	Exp.	Calc	Δ	Exp.	Calc	Δ	Exp.	Calc	Δ
P1	30	40	4	39	36	3	8	13	-5	33	23	10	7	13	-6	8	5	3	1,58	2,52	-0,94
P2	90	40	4	37	40	-3	9	13	-4	31	29	2	7	11	-4	8	10	-2	2,41	1,98	0,43
P3	30	90	4	45	44	1	39	31	8	9	10	-1	33	19	3	4	5	-1	0,01	-0,06	0,07
P4	90	90	4	38	44	-6	22	28	-6	13	13	0	20	24	-4	5	5	0	5,45	4,48	0,97
P5	30	40	10	32	27	6	12	10	2	12	9	3	11	11	0	4	4	0	2,72	2,80	-0,08
P6	90	40	10	34	37	-3	5	17	-12	18	13	5	4	11	7	12	10	2	0,51	-0,30	0,81
P7	30	90	10	40	38	2	16	16	0	27	25	2	15	15	0	12	9	3	1,78	1,33	0,45
P8	90	90	10	40	45	-5	21	20	1	20	26	-6	24	22	2	7	10	-3	5,15	3,32	1,83
P9	10	65	7	30	37	-7	14	19	-5	9	16	-7	13	13	0	3	6	-3	1,96	1,24	0,72
P10	110	65	7	55	46	9	34	23	11	24	22	2	23	17	6	14	12	2	0,48	2,45	-1,97
P11	60	23	7	26	27	-1	17	8	9	10	19	-9	15	7	8	4	5	-1	1,91	1,76	0,15
P12	60	100	7	50	45	5	23	28	-5	26	20	6	21	24	-3	8	7	1	0,42	2,45	-2,03
P13	60	65	2	50	47	3	27	25	2	14	18	-4	26	21	5	6	6	0	2,44	2,33	0,11
P14	60	65	12	40	40	-0	20	16	4	17	18	-1	20	19	1	8	9	-1	0,22	1,58	-1,36
P15	60	65	7	50	52	-2	30	32	-2	25	22	3	29	26	3	9	10	-1	1,91	1,84	0,07
P16	60	65	7	52	52	0	35	32	3	19	22	-3	26	26	0	11	10	1	1,95	1,84	0,11
P17	60	65	7	52	52	0	32	32	0	21	22	-1	24	26	-2	11	10	1	2,50	1,84	0,66

Tableau 3- 14 : Comparaison des résultats expérimentaux et des valeurs calculées grâce aux équations polynomiales du second degré pour chaque réponse.

	R_{MSE} (%)	R_{MGSD} (%)	R_{MSSF} (%)	R_L (%)	R_P (%)	R_{GAG} (%)
Valeur moyenne et écart type	51 ± 1	31 ± 3	23 ± 3	26,5 ± 2,5	10 ± 1	2,21 ± 0,33

Tableau 3- 15 : Estimation de l'écart type expérimental pour les réponses étudiées à partir de la répétition du point central du domaine expérimental

	R_{MSE} (%)	R_{MGSD} (%)	R_{MSSF} (%)	R_L (%)	R_P (%)	R_{GAG} (%)
Ecart type	6,5	9,3	7,5	6,2	2,8	1,6

Tableau 3- 16 : Ecart types calculés à partir des résidus $Y_{\text{expérimental}} - Y_{\text{calculé}}$ pour chaque réponse étudiée

3.4.3. Analyse des surfaces de réponse

Les équations polynomiales du second degré permettent de représenter sous forme de courbes d'isoreponses dans les plans de coupe du domaine expérimental exploré, l'évolution de chacune des réponses en fonction de deux variables. Les écarts de niveau entre chaque courbe d'isoreponses sont choisis supérieurs aux écarts types de chaque réponse.

3.4.3.1. Rendement en matières sèches extraites et séparées

La détermination de la masse de matière sèche du granulat séparé par filtration à chaud après extraction du co-produit de jambon sec broyé permet de calculer par différence la quantité de matière sèche solubilisée ou entraînée au filtrat, et donc le rendement en matière sèche des deux opérations successives d'extraction et de filtration à chaud : R_{MSE}

L'analyse des courbes d'isoreponses de R_{MSE} en fonction de la durée de l'extraction et de la température (Figure 3- 9) ou du ratio liquide/solide (Figure 3- 10) montre que la quantité de matière sèche extraite ou entraînée passe par un maximum, situé autour d'une heure de temps de contact, d'autant plus marqué que la température est proche de 65 °C et le ratio liquide/solide compris entre 4 et 8. L'effet d'une augmentation de la température de 30 à 70 °C apparaît prépondérant sur celui du ratio liquide/solide (Figure 3- 11).

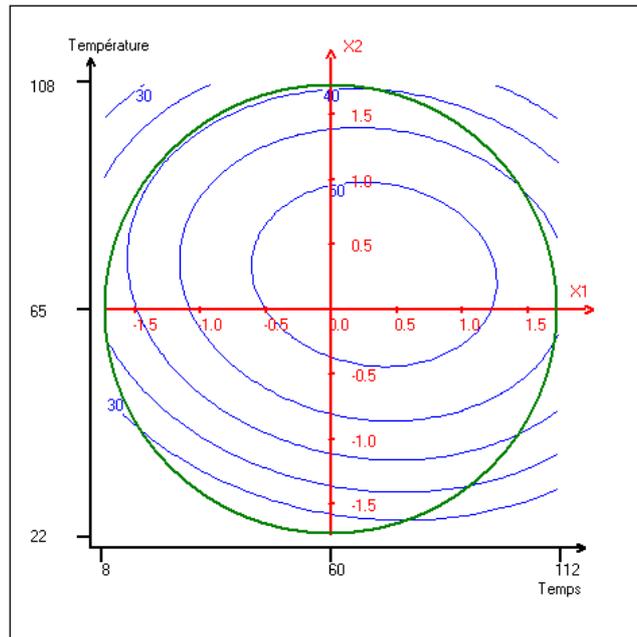


Figure 3- 9 : Courbes d'isorréponses du rendement en matière sèche extraite R_{MSE} en fonction de la température et du temps de contact pour un ratio liquide/solide de 7

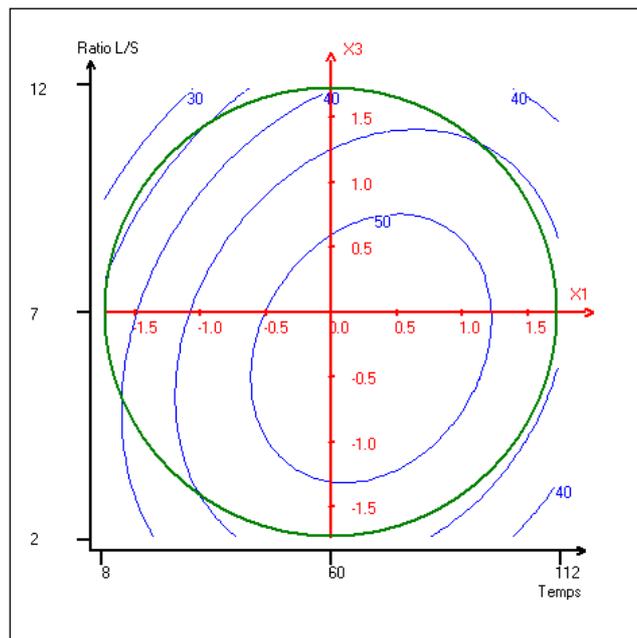


Figure 3- 10 : Courbes d'isorréponses du rendement en matière sèche extraite R_{MSE} extraits en fonction du ratio liquide/solide et du temps de contact pour une température de 65 °C

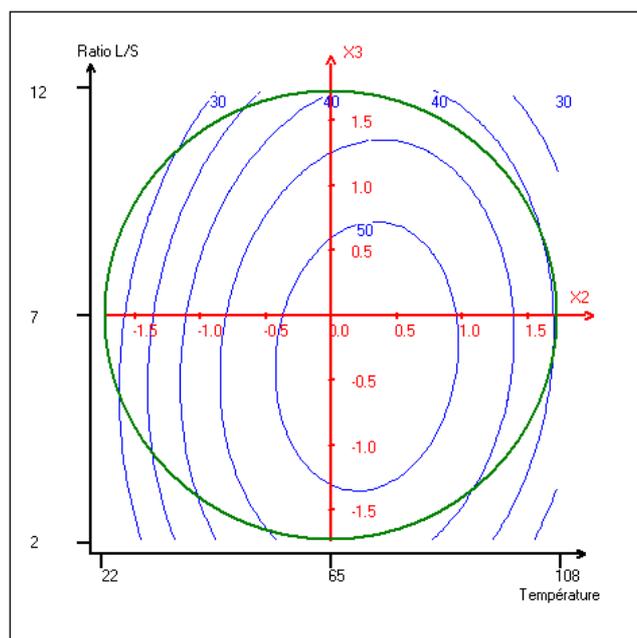


Figure 3- 11 : Courbes d'isorréponses du rendement en matière sèche extraite R_{MSE} en fonction de la température et du ratio liquide/solide pour un temps de contact de 1 heure

Ainsi, au bout d'une heure de temps de contact à 65 °C, et pour un ratio liquide/solide limité à 3, près de 50 % de la matière sèche initiale du co-produit de jambon sec peuvent être extraits et séparés au filtrat.

Par décantation à froid du filtrat extrait et séparé à chaud, une phase matière grasse brute est séparée de la phase aqueuse, et la détermination des quantités de matières sèches contenues dans ces deux phases permet de calculer les rendements en matière grasse décantée R_{MGSD} et en matière sèche solubilisée au filtrat R_{MSSF} .

L'analyse des courbes d'isorréponses de ces deux réponses en fonction des trois variables étudiées montre que comme dans le cas du rendement en matière sèche R_{MSE} , le rendement en matière grasse décantée R_{MGSD} passe par un maximum au bout d'une heure d'extraction (Figure 3- 12, Figure 3- 13), avec un effet prépondérant de l'augmentation de la température sur celui de l'augmentation du ratio liquide/solide (Figure 3- 14). La zone optimale de l'extraction et la décantation de matière grasse est très voisine de celle de la matière sèche : au bout d'une heure de temps de contact à 65 °C, pour un ratio liquide/solide de 4, le rendement en matière grasse sèche décantée du filtrat atteint 30 %. Par contre, si comme précédemment le rendement en matière sèche solubilisée dans la phase aqueuse R_{MSSF} passe toujours par un maximum en fonction de la durée d'extraction (Figure 3- 15 et Figure 3- 16), il apparaît très sensible à une augmentation de la température au-delà de 65 °C pour les ratios liquide/solide décroissants (<7) ou inversement à une augmentation du ratio

liquide/solide au-delà de 7, pour la température décroissante ($<65\text{ }^{\circ}\text{C}$) (Figure 3- 17). Au bout d'une heure de temps de contact, à $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ pour un ratio liquide/solide de 7, le rendement en matières sèches séparées dans la phase aqueuse décantée est voisin de 20 %.

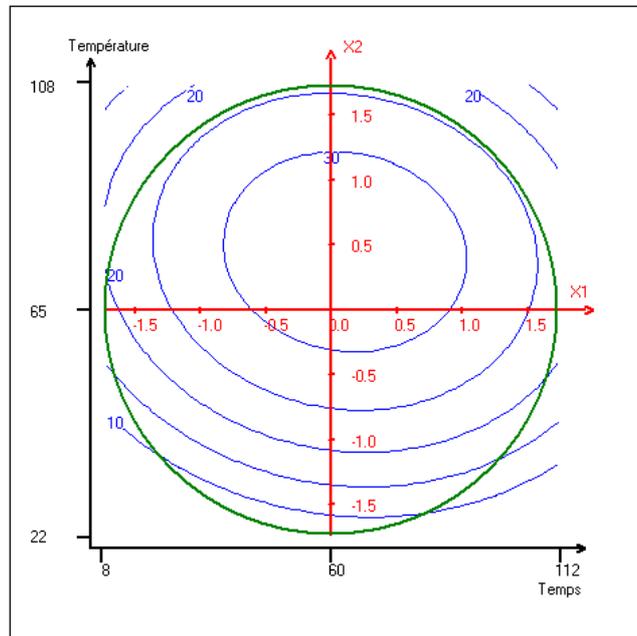


Figure 3- 12 : Courbes d'isoréponses du rendement en matière sèche de la matière grasse décantée R_{MGSD} en fonction du temps de contact et de la température pour un ratio liquide/solide de 7

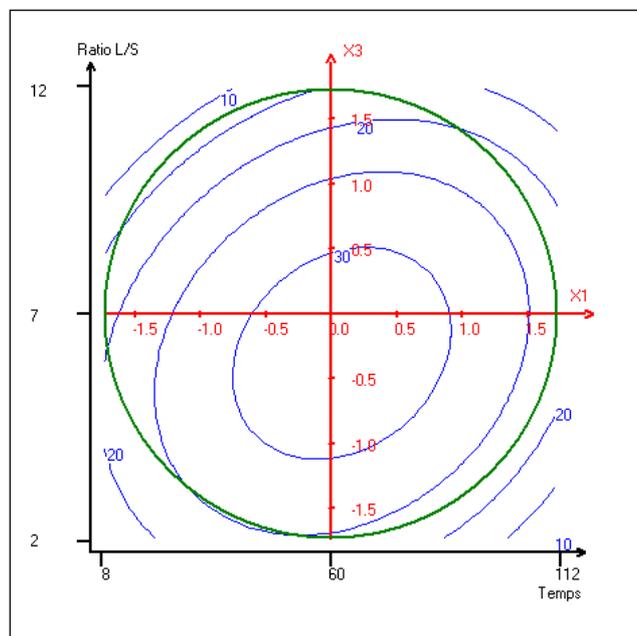


Figure 3- 13 : Courbes d'isoréponses du rendement en matière sèche de la matière grasse décantée R_{MGSD} en fonction du temps de contact et du ratio liquide/solide pour une température de $65\text{ }^{\circ}\text{C}$

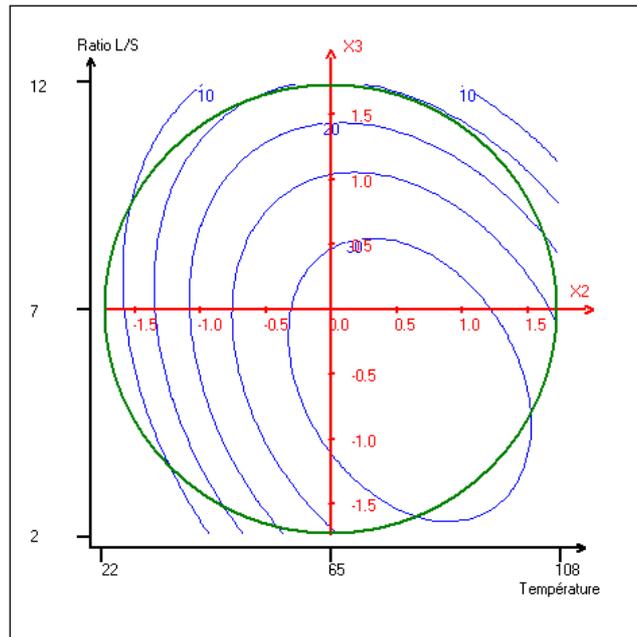


Figure 3- 14 : Courbes d'isoréponses du rendement en matière sèche de la matière grasse décantée R_{MGSD} en fonction de la température et du ratio liquide/solide pour un temps de contact de 1 heure

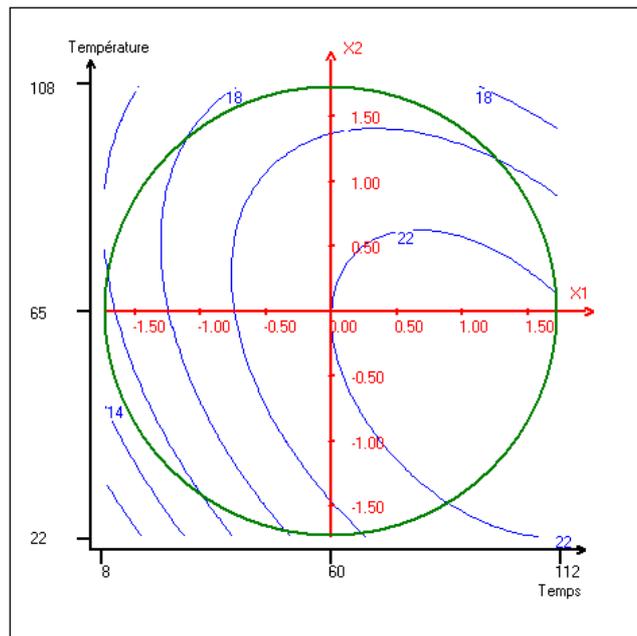


Figure 3- 15 : Courbes d'isoréponses du rendement en matière sèche solubilisée dans la phase aqueuse R_{MSSF} en fonction du temps de contact et de la température pour un ratio liquide/solide de 7

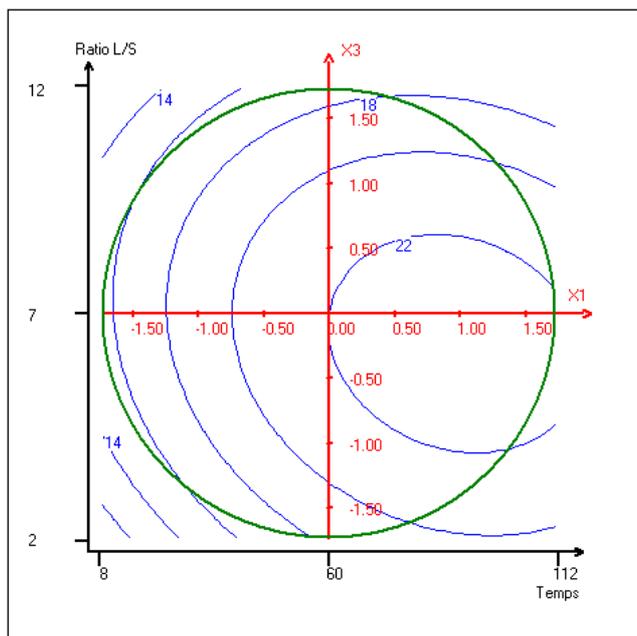


Figure 3- 16 : Courbes d'isoréponses du rendement en matière sèche solubilisée dans la phase aqueuse R_{MSSF} en fonction du temps de contact et du ratio liquide/solide pour une température de 65 °C

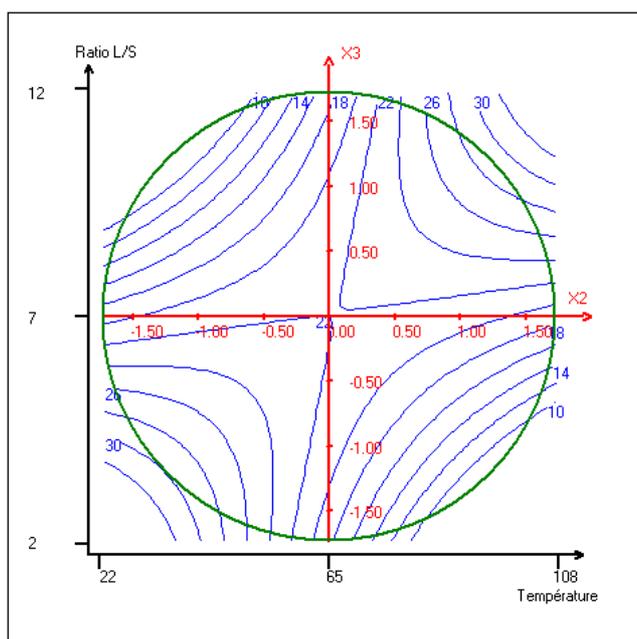


Figure 3- 17 : Courbes d'isoréponses du rendement en matière sèche solubilisée dans la phase aqueuse R_{MSSF} en fonction de la température et du ratio liquide/solide pour un temps de contact de 1 heure

Ces différences d'effet de la température et du ratio liquide/solide sur les rendements en matière grasse entraînée et décantée, et en matière sèche extraite dans la phase aqueuse peuvent s'expliquer par la différence de comportement des lipides et des protéines vis-à-vis de l'extraction aqueuse et de la décantation.

3.4.3.2. Rendement en lipides et en protéines extraits et séparés

Le dosage des lipides et des protéines dans les phases matière grasse et aqueuse obtenues après décantation à froid du filtrat d'extraction permet de calculer les rendements en lipides extraits et décantés R_L , et en protéines solubilisées R_p .

3.4.3.2.1. Rendement en lipides extraits sous forme de matière grasse décantée R_L

Les courbes d'isoreponses du rendement en lipides extraits en fonction de la durée de contact et de la température (Figure 3- 18) font clairement ressortir l'effet prépondérant d'une augmentation de la température : faible à 20 °C lorsque la matière grasse est solide, le rendement en lipides extraits décantés en une heure de temps de contact croît de façon quasi linéaire de 40 à 60 °C pour atteindre une valeur maximum proche de 25 % à 65 °C.

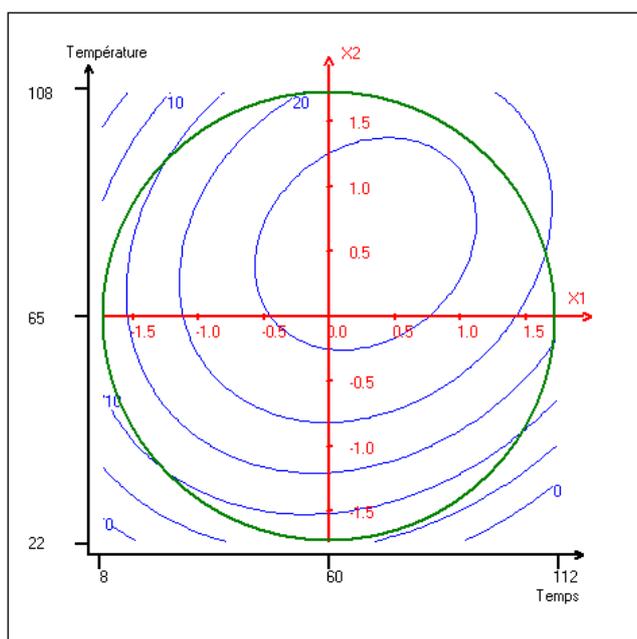


Figure 3- 18 : Courbes d'isoreponses du rendement en lipides extraits R_L en fonction du temps de contact et de la température pour un ratio liquide/solide de 7

L'augmentation du ratio liquide/solide a peu d'effet sur l'extraction des lipides voire même s'avère néfaste au rendement (Figure 3- 19). De même, un temps de contact prolongé au-delà d'une heure tend à diminuer le rendement en lipides.

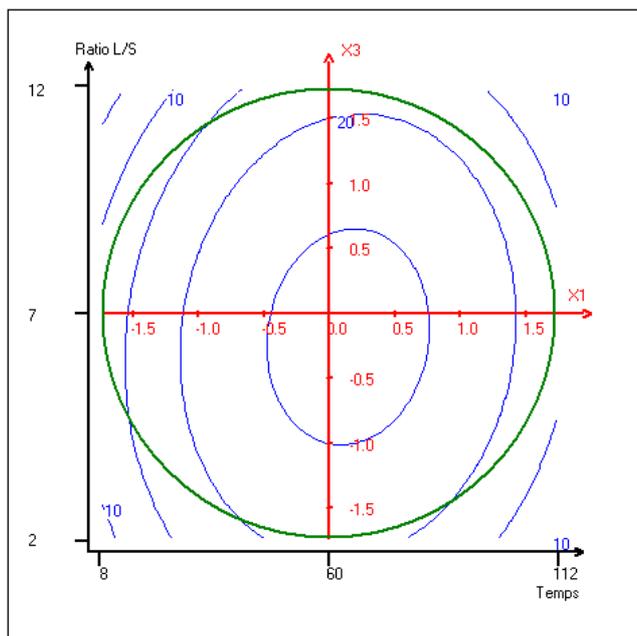


Figure 3-19 : Courbes d'isoréponses du rendement en lipides extraits R_L en fonction du temps de contact et du ratio liquide/solide pour une température de 65 °C

Ainsi, l'extraction de 25 % de lipides de la matière sèche du co-produit de jambon sec concassé pourra être obtenue en une heure à 65 °C pour un ratio liquide/solide limité à 4 (Figure 3- 20).

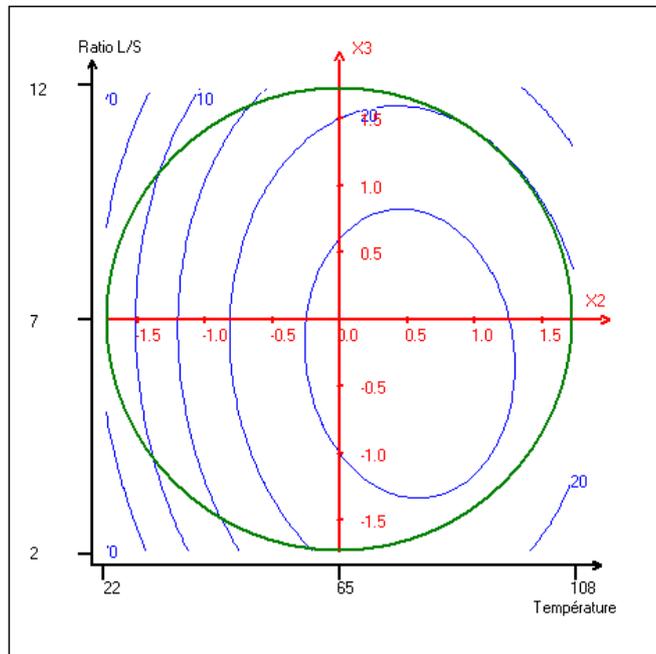


Figure 3-20 : Courbes d'isoréponses du rendement en lipides extraits R_L en fonction de la température et du ratio liquide/solide pour un temps de contact de 1 heure

L'effet défavorable d'une plus grande dilution du milieu et d'un temps de contact prolongé à température élevée pourrait être attribué d'une part à la plus forte dégradation des

triglycérides par hydrolyse, et d'autre part à celle des protéines dont la coagulation peut pénaliser l'entraînement des gouttelettes lipidiques et la séparation des phases par décantation à froid. A l'appui de cette hypothèse, remarquons que la teneur en lipides séparés par décantation dans la phase aqueuse tend à augmenter lorsque la température et la dilution sont élevées. Par ailleurs, une plus forte dilution est connue pour être défavorable à la décantation des graisses (Torres, 2008).

3.4.3.2.2 Rendement en protéines extraites dans la phase aqueuse décantée

Comme on pouvait s'y attendre du fait de leur caractère peu soluble dans l'eau, l'augmentation du ratio liquide/solide et de la durée de contact sont favorables au rendement d'extraction des protéines (Figure 3- 21).

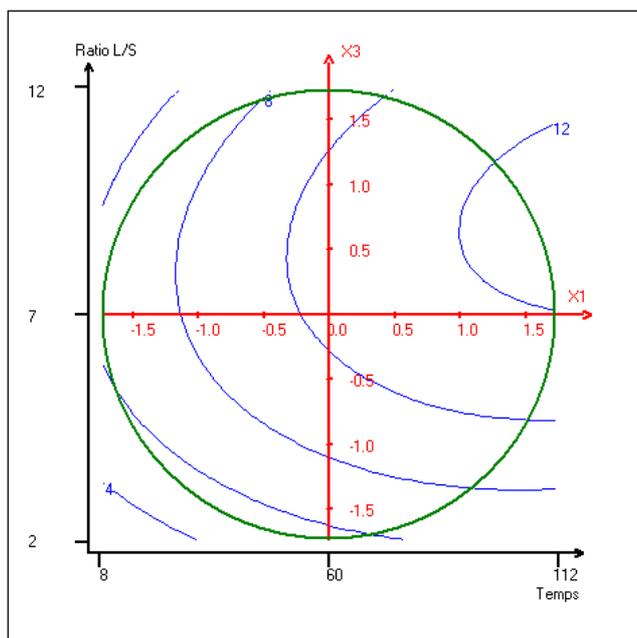


Figure 3- 21 : Courbes d'isoreponses du rendement en protéines extraites R_P en fonction du temps de contact et du ratio liquide solide pour une température de 65 °C.

Entre 30 et 65 °C, et pour un ratio liquide solide de 7, le rendement en protéines extraites augmente progressivement jusqu'à des valeurs proches de 10 % avec le temps de contact (Figure 3- 22). Par contre l'augmentation de la température au-delà de 70 °C diminue ce rendement, même pour un facteur de dilution élevé (Figure 3- 23).

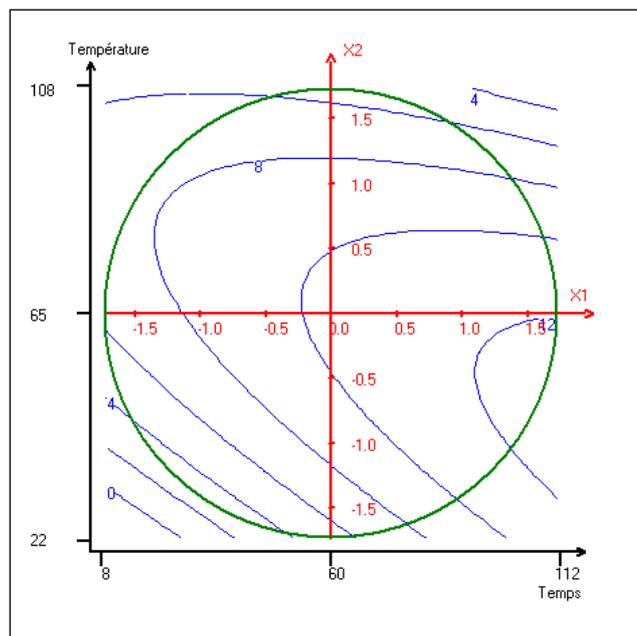


Figure 3- 22 : Courbes d'isoréponses du rendement en protéines extraites R_p en fonction du temps de contact et de la température à $L/S = 7$

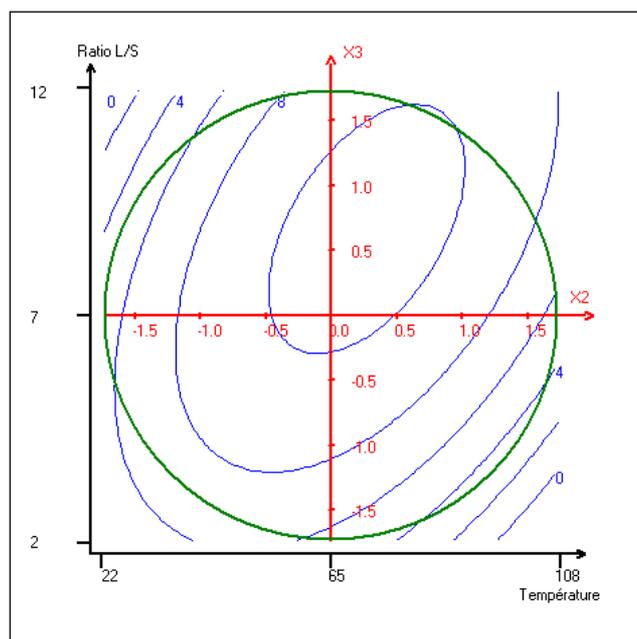


Figure 3- 23 : Courbes d'isoréponse du rendement en protéines extraites R_p en fonction de la température et du ratio liquide/solide pour un temps de contact de 1 heure

Cet effet néfaste d'une élévation de la température s'explique par la dénaturation et la coagulation des protéines (Tornberg, 2005) qui deviennent insolubles dans l'eau.

A 65 °C, et pour un ratio liquide solide de 7, le rendement en protéines extraites atteint néanmoins 14 % de la matière sèche du co-produit de jambon sec concassé au bout de deux heures de temps de contact, ce qui représente 42 % des protéines initialement introduites.

Dans ces conditions d'extraction le raffinat solide séparé par filtration à chaud, qui représente 44 % de la matière sèche initiale du co-produit de jambon sec, contient encore 33 % de protéines, soit 45 % des protéines initiales, et 13 % de lipides, soit 19 % des lipides initiaux pour une teneur en minéraux de 56 %. Les protéines extraites et séparées au filtrat aqueux sont accompagnées de 4 % de lipides et 6 % des minéraux initialement contenus dans le co-produit.

Les GAG, constituants minoritaires associés aux protéines sont aussi extraits dans la phase aqueuse.

3.4.3.3. *Rendement en glycosaminoglycannes extraits dans la phase aqueuse*

Les conditions opératoires favorables à l'extraction des GAG apparaissent relativement différentes de celles favorables à l'extraction des protéines. Ainsi pour une heure de temps de contact, le rendement en GAG dosés dans la phase aqueuse atteint une valeur supérieure à 2 ‰ pour un large domaine de température (65 à 100 °C) et de ratio liquide/solide (2 à 7) (Figure 3- 24). A température moyenne (65 °C), et pour des ratios liquide/solide faibles (2 à 4) l'augmentation de la durée d'extraction augmente le rendement en GAG (Figure 3- 25), bien que ce facteur agisse peu sur le rendement en protéines extraites (Figure 3- 21) et la dilution du milieu extractant (L/S croissant), favorable à l'extraction des protéines pour des temps de contact élevés, tend à diminuer R_{GAG} . De même, à ratio liquide/solide moyen (L/S=7), l'augmentation de la température et du temps de contact, qui permet d'atteindre des rendements en GAG voisins de 5 % (Figure 3- 26) ne conduit pas aux meilleurs rendements en protéines extraites (Figure 3- 22).

Ces résultats peuvent être attribués aux propriétés d'hydrophilie et de solubilité des GAG. Présents dans les tissus cartilagineux et les ligaments, une fraction des GAG du co-produit de jambon sec serait très accessible à l'extraction par l'eau, comme en témoigne les rendements R_{GAG} obtenus même pour des conditions de faible température et temps de contact, pour lesquelles peu de protéines sont solubilisées et peu de lipides sont entraînés. Par contre, l'extraction des GAG contenus dans les tissus osseux nécessiterait une déstructuration de la matrice extracellulaire à laquelle ils sont associés, en particulier aux protéines collagéniques, pour les rendre accessibles à l'extraction par l'eau. Cette déstructuration, traduite par la solubilisation d'une partie des protéines et l'entraînement des lipides, est globalement favorisée par l'augmentation de la température et la dilution du milieu.

La coagulation des protéines, favorisée par une augmentation importante de la température, au-delà de 70-80 °C, n'agirait pas sur l'extraction des GAG. Par contre, leur séparation dans la phase aqueuse pourrait être perturbée par la moins bonne coalescence des lipides sous forme de matière grasse solide lors de la décantation à froid, observée à plus forte dilution du milieu extractant.

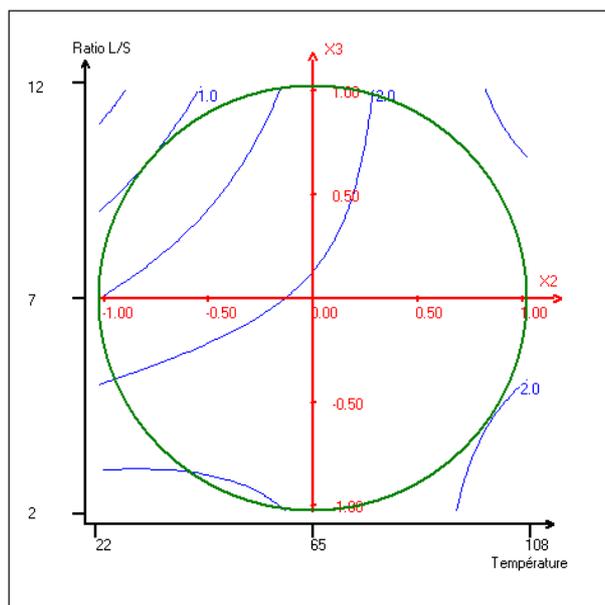


Figure 3- 24 : Courbes d'isoréponses du rendement en GAG entraînés dans la phase aqueuse R_{GAG} en fonction de la température et du ratio liquide/solide pour un temps de contact de 1 heure

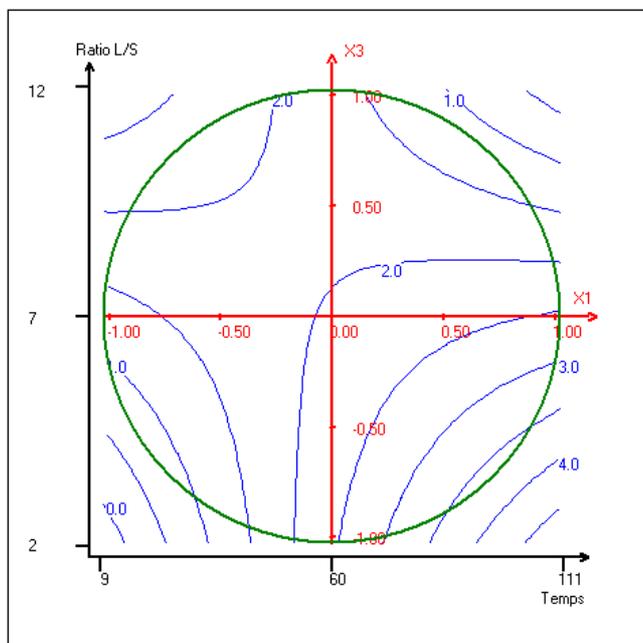


Figure 3- 25 : Courbes d'isoréponses du rendement en GAG entraînés dans la phase aqueuse R_{GAG} en fonction du temps de contact et du ratio liquide solide pour une température de 65 °C

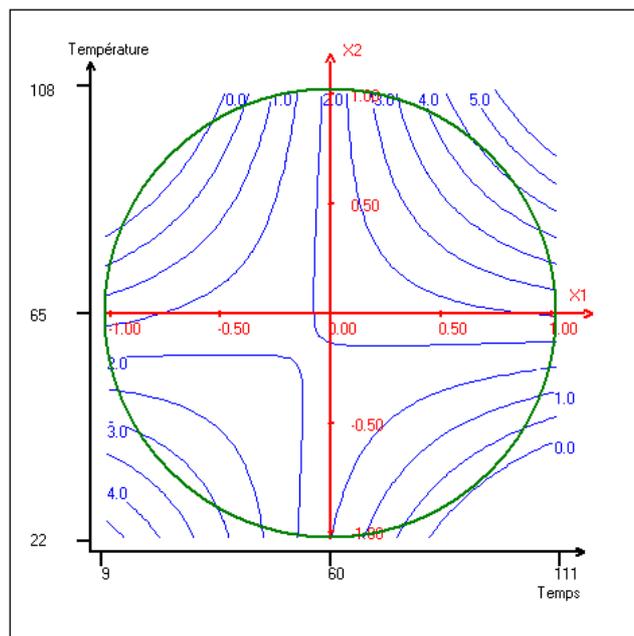


Figure 3- 26 : Courbes d'isoresponses du rendement en GAG entraînés dans la phase aqueuse R_{GAG} en fonction du temps de contact et de la température à $L/S = 7$

3.5. Conclusions pour le choix des conditions opératoires du fractionnement aqueux des co-produits de jambon sec

Le procédé de fractionnement aqueux du co-produit de jambon sec proposé apparaît donc efficace et d'une mise en œuvre relativement simple :

- le concassage au broyeur à marteaux du co-produit assure une bonne mise en contact de l'eau et des morceaux de co-produits, avec des ratios liquide/solide qui peuvent être limités à des valeurs inférieures à 5.

- l'extraction aqueuse est réalisée dans un simple contacteur agité, qui peut constituer le premier étage du fractionnement et la filtration à chaud permet de séparer un raffinat solide, partiellement délipidé jusqu'à 10 %, et contenant majoritairement la matière minérale et les protéines insolubles. Un second étage d'extraction du granulat solide pour améliorer le rendement en lipides extraits, mais dont les conditions opératoires devront être adaptées pour les libérer de la matrice protéique insoluble.

- par simple décantation à froid, la fraction lipidique entraînée peut être séparée sous forme d'une matière grasse solide, contenant 40 à 50 % d'eau, très peu de matière minérale et de protéines, et jusqu'à plus de 95 % de lipides par rapport à la matière sèche. Les rendements

en lipides extraits et récupérés dans cette fraction pourront atteindre 80 % des lipides initiaux selon les conditions opératoires du fractionnement aqueux.

- la décantation laisse une phase aqueuse, diluée en matière sèche, qui contient jusqu'à 40 % des protéines initiales du co-produit de jambon sec selon les conditions opératoires du fractionnement. Le recyclage de cet extrait aqueux pour une nouvelle extraction du granulat solide nécessitera une adaptation des conditions opératoires pour contrôler l'influence défavorable de sa saturation en matière sèche (protéines, sels et lipides non décantés). Bien que partielle et très sensible aux conditions opératoires, l'extraction des GAG permet d'obtenir des teneurs pouvant atteindre 5,45 mg/g de matière sèche dans le filtrat.

Mais les conditions opératoires pour une optimisation du rendement en lipides ne sont pas les mêmes que celles pour le rendement en protéines comme l'a montré l'étude de l'influence des trois facteurs durée de contact, température et ratio liquide/solide grâce à la réalisation du plan d'expérience.

La qualité des modèles polynomiaux du second degré choisis pour représenter l'ensemble des résultats dans le domaine expérimental étudié peut-être remise en cause du fait des écarts observés entre les valeurs expérimentales et les valeurs calculées pour les réponses en certains points du plan. Ces écarts peuvent s'expliquer par deux raisons :

- la séparation liquide/solide par filtration à chaud en fin d'extraction aqueuse du co-produit de jambon sec concassé est réalisée à la température de sortie du réacteur. Bien que rapidement réalisée (durée inférieure à 10 minutes), la température du milieu de filtration n'est pas contrôlée et tend à diminuer dans le gâteau de filtration. La précipitation de constituants solubilisés ou entraînés lors de l'extraction aqueuse n'est donc pas à exclure, d'autant plus que la température de l'extraction, et donc celle de filtration sera basse, à la limite de la température de fonte des matières grasses. De même, la viscosité du filtrat risque de dépendre de la température et influera sur le taux de matière sèche retenu par le gâteau solide. Remarquons néanmoins que ces écarts de rendements en matière sèche extraite et séparée ne sont pas systématiquement corrélables avec la température d'extraction ni au rapport liquide/solide, pas plus qu'à la teneur en matière sèche du gâteau solide après filtration.

- la séparation de la matière grasse par décantation à froid est réalisée à température contrôlée (+4 °C). Mais la cinétique de coalescence des gouttelettes lipidiques entraînés et de leur solidification est très dépendante de la composition de l'extrait et de sa dilution, ce qui se traduit par une assez forte variation de la teneur en eau des matières grasses séparées (33 à 65 % de matière sèche) d'une part, la présence de lipides résiduels dans la phase aqueuse

séparée (17 à 71 % de la matière sèche) d'autre part, et enfin celle de protéines dans la matière grasse décantée (0 à 24 % de la matière sèche). Ces variations de la matière sèche et de la teneur en protéines des matières grasses décantées peuvent être à l'origine d'une plus grande incertitude sur le dosage des lipides qu'elles contiennent. Cependant, aucune corrélation n'a pu être établie avec les écarts observés entre les valeurs expérimentales et les valeurs calculées pour le rendement en lipides extraits et séparés dans la matière grasse décantée. Par contre, la présence de lipides résiduels dans la phase aqueuse ne semble pas perturber le dosage des protéines, et les écarts observés pour le rendement en protéines extraites sont plus faibles.

En tenant compte de ces réserves sur la précision des prévisions des rendements calculés grâce à ces modèles, deux orientations pour le choix des conditions opératoires du fractionnement aqueux des co-produits de jambon sec peuvent être proposées :

1) Une forte dilution, à température modérée, assure une solubilisation importante des protéines. Ainsi, à 65 °C, pour un ratio liquide/solide de 7, un tiers des protéines présentes dans le co-produit de jambon sec concassé est extrait en une heure, et le rendement en GAG extraits est voisin de 2 %, soit 13 % du potentiel des GAG dosés dans le co-produit. Dans ces conditions, moins de 1 % des protéines sont entraînés dans la matière grasse décantée, et le granulat solide séparé contient encore 17 % des protéines, ce qui, à l'incertitude des dosages et de la prévision près, conduit à un bilan sur la matière première protéique cohérent (Tableau 3- 17).

Protéines dans le co-produit de jambon sec	Protéines dans le granulat	Protéines dans le filtrat	Protéines dans la matière grasse décantée
33 ± 5 %	17 ± 1 %	10 ± 1 %	1 ± 0 %

Tableau 3- 17 : Bilan matière protéique pour le fractionnement aqueux du co-produit de jambon sec 1 heure à 65 °C avec L/S=7

Par contre, il n'en est pas de même pour le bilan matière lipidique dans ces conditions opératoires (Tableau 3- 18).

Lipides dans le co- produit de jambon sec	Lipides dans le granulat	Lipides dans le filtrat	Lipides dans la matière grasse décantée
31 ± 3 %	9 ± 3 %	7 ± 1 %	26 ± 2 %

Tableau 3- 18 : Bilan matière lipidique pour le fractionnement aqueux du co-produit de jambon sec 1 heure à 65 °C avec L/S=7

Ainsi, bien que l'entraînement des lipides apparaisse efficace à 65 °C (70 % des lipides entraînés), la forte dilution du milieu se traduit par une décantation des matières grasses plus difficile (20 % des lipides entraînés dans la phase aqueuse) et une surestimation de la quantité de lipides séparés dans la matière grasse décantée.

Cette incertitude sur le rendement en lipides associée à la forte dilution du milieu et la moindre pureté de l'extrait aqueux, qui imposera une étape de purification des protéines et des GAG extraits et un coût élevé de recyclage de l'eau, nous ont conduit à ne pas retenir ces conditions opératoires.

2) L'augmentation de la température d'extraction permet, pour des rapports liquide/solide plus faibles et des temps de contacts réduits, d'entraîner une part importante des lipides du co-produit de jambon sec. Ainsi, à 90 °C, 70 % des lipides seraient extraits en 30 minutes sous forme de matière grasse décantée et pour un ratio liquide/solide de 4. La décantation des matières grasses est alors plus efficace, ne laissant que moins de 7 % des lipides dans la phase aqueuse. Bien que dans ces conditions, le rendement en protéines extraites dans la phase aqueuse après décantation soit limité (moins de 15 %), cette orientation a été retenue pour une validation des prévisions à l'échelle pilote, en raison du gain économique que représente la diminution des temps de contact et du facteur de dilution pour le recyclage de l'eau et la récupération des protéines et des GAG.

4. Caractérisation et étude des propriétés fonctionnelles des fractions issues du fractionnement aqueux du co-produit de jambon sec

Le procédé de fractionnement aqueux du co-produit de jambon sec défini par les travaux que nous venons de présenter conduit à trois fractions :

- le raffinat solide issu de la filtration à chaud du milieu d'extraction aqueux, obtenu sous forme d'un granulat, riche en minéraux, et qui contient aussi les lipides et les protéines non extraites. Nous le désignerons par Granulat Protéo-Minéral ou GPM,
- l'extrait solide issu de la décantation à froid du filtrat d'extraction aqueux qui contient principalement des lipides et que nous désignerons par Fraction Matière Grasse Décantée FMGD,
- l'extrait liquide issu de la séparation par décantation des matières grasses, qui contient les protéines solubilisées, des minéraux ainsi que des lipides non décantés, et des composés hydrosolubles. La concentration et le séchage de cet extrait aqueux conduit à une fraction solide que nous désignerons par Fraction Protéique Solubilisée ou FPS.

La répartition de ces trois fractions et leur composition dépend des conditions opératoires de la mise en contact du co-produit de jambon sec et de l'eau. Ce qui aura probablement une influence sur leurs propriétés fonctionnelles.

A ce stade de notre étude, et pour permettre l'évaluation des applications de ces trois fractions, nous avons choisi d'en réaliser une production à l'échelle pilote, dans les conditions opératoires issues des orientations définies par l'étude de l'influence des principaux facteurs. Les trois fractions GPM, FMGD et FPS obtenues dans ces conditions seront alors caractérisées et leurs propriétés fonctionnelles évaluées.

4.1. Production à l'échelle pilote des fractions issues du fractionnement aqueux des co-produits de jambon sec

Le fractionnement aqueux est mené sur 64 kg de co-produit de jambon sec concassés au broyeur à marteaux Electra Goulu (photographie n°3-3, § 3.2). L'extraction est réalisée dans un extracteur Tournaire (Photographie 4- 1), en présence de 207 kg d'eau, soit un ratio liquide/solide de 3,25, durant 30 minutes à 90 °C, avec une agitation à 7,2 tr/min en lissage (la pâle recouvre la matière) et débâtissage (la pâle soulève la matière) alternés toutes les 3 minutes.

La filtration est effectuée à chaud à l'aide d'une centrifugeuse à bol Rousselet (Photographie 4- 2) équipée d'un panier de 0,5 m² de surface aux mailles de 10 µm, durant 15 minutes à 1500 tr/min. On obtient d'une part le filtrat liquide et d'autre part un raffinat solide.

Le raffinat solide est séché 48 heures à 50 °C dans une étuve à plateaux ventilée MPC Secasi d'une capacité de 2 m³ (Photographie 4- 3), conduisant au Granulat Protéo-Minéral (Photographie 4- 4).

Le filtrat liquide est décanté à froid dans des cuves de 76 litres, maintenues à +4 °C durant 24 heures et les matières grasses solidifiées sont séparées par écrémage manuel pour former la Fraction Matière Grasse Décantée (13 kg) (Photographie 4- 5). La phase liquide séparée de la matière grasse (171 kg) est concentrée 6,3 fois sous vide à 38 °C durant 8 heures avec l'évaporateur de l'équipement Tournaire (Photographie 4- 6). Le concentrat obtenu (27 kg) est placé sur les plateaux du lyophilisateur Cryonext (Photographie 4- 8) conduisant au bout de 48 heures à la Fraction Protéique Solubilisée (Photographie 4- 7).

La Figure 4- 1 rassemble le bilan matière et les caractéristiques de composition des trois fractions obtenues par cet essai de production pilote.



Photographie 4- 1 : Extracteur Tournaire d'une capacité de 300 litres



Photographie 4- 2 : Centrifugeuse Rousselet (Essoreuse à bol)



Photographie 4- 3 : Etuve à plateaux ventilée MPC Secasi



Photographie 4- 4 : Granulat Protéo-Minéral, dans l'enceinte climatique



Photographie 4- 5 : Fraction Matière Grasse Décantée



Photographie 4- 6 : Evaporateur concentrateur Tournaire



Photographie 4- 7 : Lyophilisateur Cryo Blot 27



Photographie 4- 8 : Lyophilisat de la fraction protéines solubilisées

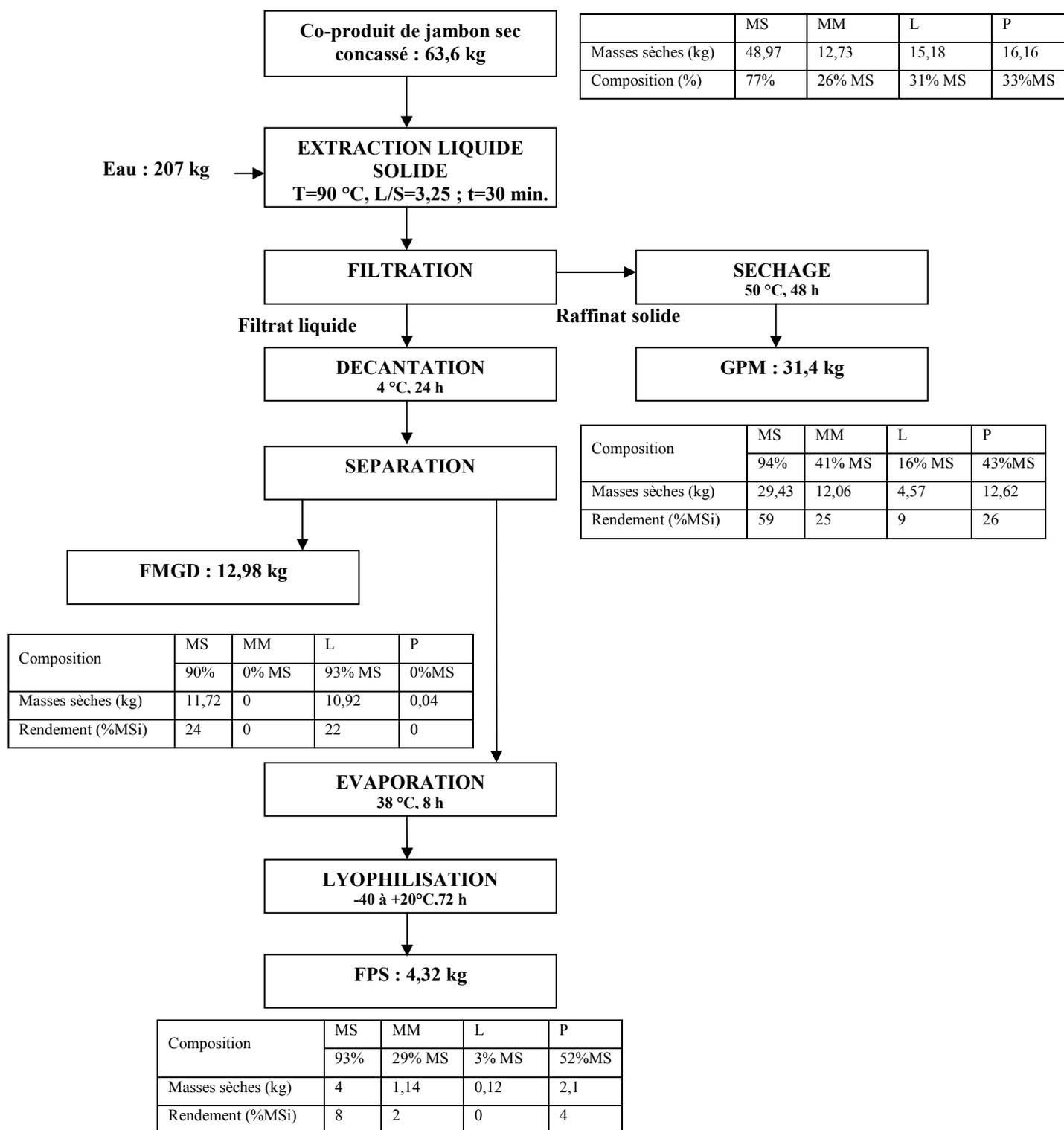


Figure 4- 1 : Bilan matière, rendements et composition de la production pilote des fractions GPM, FMGD et FPS par fractionnement aqueux des co-produits de jambon sec concassés

Dans les conditions opératoires choisies pour l'extraction pilote ($t=30$ min, $T=90$ °C, $L/S=3,25$), les rendements en matière sèche ($R_{MSE}=41$ %), en lipides ($R_L=22$ %) et en protéines ($R_P=4$ %) extraits du co-produit de jambon sec concassé sont conformes aux valeurs prévues par l'étude des surfaces de réponse (§ 3.4.3.), ce qui justifie l'exploitation des modèles polynomiaux du second degré pour la prévision des résultats.

La réduction du rapport liquide/solide à une valeur de 3,25, qui permet de maintenir une agitation efficace dans l'extracteur pilote Tournaire, associé au temps de contact réduit (30 min) à 90 °C permet d'obtenir :

- un rendement en matière grasse décantée élevé (24 %), caractérisée par une faible teneur en eau (10 %) et une bonne pureté en lipides (93 %), avec seulement des traces de protéines et de matière minérale entraînée ; 70 % des lipides du co-produit de jambon sec concassé sont ainsi récupérés.

- une décantation des matières grasses efficace, avec très peu de lipides résiduels dans la phase aqueuse et donc dans la fraction protéique solubilisée lyophilisée (3 % de lipides)

- un granulats fortement délipidés, et enrichi en protéines (43 %), pour 41 % de matière minérale.

4.2. Caractérisation de la fraction protéines solubilisées (FPS)

La fraction protéines solubilisées lors de l'extraction liquide/solide par l'eau, est séparée des matières grasses par décantation à froid, et isolée par concentration puis lyophilisation de la phase aqueuse. L'extrait ainsi obtenu à 93 % de matière sèche se présente sous forme d'un solide de couleur jaune/beige clair, peu dense, texturé en plaque qui peut être aisément rebroyé en poudre (Photographie 4- 8).

4.2.1. Caractérisation chimique de l'extrait FPS lyophilisé

L'extrait FPS contient très peu de lipides (3 % de la matière sèche), une proportion importante de matière minérale (29 % de la matière sèche) et majoritairement des protéines (52 % de la matière sèche).

4.2.1.1. Caractérisation des lipides de l'extrait FPS lyophilisé

Les lipides de l'extrait FPS représentent moins de 1 ‰ des lipides du co-produit de jambon sec et 1 % des lipides extraits par le fractionnement aqueux, ce qui montre l'efficacité de l'opération de séparation des matières grasses par décantation à froid.

L'analyse de la composition glycéridique (Tableau 4- 1) et en acides gras (Tableau 4- 2) montre que 92 % des lipides sont sous forme de triglycérides (77,2 %), de diglycérides (4,7 %) et d'acides gras libres (10 %), avec une proportion d'acides mono-insaturés (48 %), en particulier oléique, et polyinsaturés (9 %), en particulier linoléique, supérieure à celle des lipides du co-produit (respectivement 41,5 % et 6 %, tableau 2-8).

Composé	Nature	Composition glycéridique (g/100 g de corps gras)
Acide palmitique (C16)	Acides gras libres	2,9 ± 0,1
Acide stéarique (C18)		7,3 ± 0,2
diC16	Diglycérides	2,9 ± 0,1
diC18		1,8 ± 0,1
T46	Triglycérides	0,6 ± 0,1
T48		1,7 ± 0,0
T49		Nd
T50		12,5 ± 0,5
T51		0,8 ± 0,1
T52		47,7 ± 1,3
T53		0,9 ± 0,1
T54		13,0 ± 0,8
Total	Total	92 %

Tableau 4- 1 : Analyse glycéridique de la fraction lipidique de la FPS

Ecriture simplifiée	Nom commun	Composition (g/100 g d'acides gras)
C14:0	ac. myristique	1,4
C16:0	ac. palmitique	27,1
C18:0	ac. stéarique	12,9
Autres		0,7
Total saturés		42,1
C16:1	ac. palmitoléique	2,6
C18:1	ac. oléique	45,2
Autres		0
Total monoinsaturés		47,8
C18:2 (ω6)	ac. linoléique	7,6
C20:4 (ω6)	ac. arachidonique	0
Autres		0
Total ω6		7,6
C18:3 (ω3)	ac. g linoléique	1,4
	ac. eicosapentaénoïque	
C20:5 (ω3)	(EPA)	0
Autres		0
Total ω3		1,4
Total poly-insaturés		9,00
Polyinsaturés/total		0,09
TOTAL		85,8

Tableau 4- 2 : Composition en acides gras de la fraction lipidique de la FPS

4.2.1.2. Caractérisation de la fraction minérale de l'extrait FPS lyophilisé

La matière minérale de l'extrait FPS représente 9 % de la matière minérale du co-produit de jambon sec.

L'analyse des principaux atomes minéraux de l'extrait FPS lyophilisé montre que le sodium y est nettement majoritaire (Tableau 4- 3).

	Ca g/kg	Fe g/kg	Zn g/kg	Mg g/kg	Na g/kg	K g/kg	P g/kg
Extrait FPS	1,9	26,8.10 ⁻³	11,0.10 ⁻³	0,5	101,8	27,3	6,8
Co-produit de jambon concassé	120,5	93,8.10 ⁻³	121,0.10 ⁻³	2,5	18,8	4,5	63,4

Tableau 4- 3 : Composition en minéraux de la FPS lyophilisée

Sous l'hypothèse raisonnable que l'essentiel du sodium provient du chlorure de sodium ajouté lors du salage du jambon frais (6 g pour 100 g de produit frais), les 10,2 % de sodium dans la matière minérale de l'extrait FPS correspondraient à 26,3 % de NaCl, soit près de 90 % de cette matière minérale du FPS. La faible teneur en phosphore (<0,7 %) et surtout en calcium (<0,2 %) indique que très peu de phosphate de calcium ont été entraînés lors du

fractionnement aqueux : 1,9 g de calcium par kilogramme de matière minérale correspondrait à 15 % du phosphore dosé, sous la forme de particules d'hydroxyapatite de l'os (65,5 % de Ca pour 34,5 % de P). Les 85 % restant pourraient provenir de sel de phosphate, en particulier avec le potassium dont la teneur dans la matière minérale (2,7 %) est supérieure à celle qui serait nécessaire pour neutraliser les ions phosphates PO_4^{3-} calculés en équivalent gramme de phosphore (6,8 g de phosphore par kilogramme de matière minérale correspondrait à $6,8/31=0,22$ équivalent PO_4^{3-} , soit $3 \times 0,22 \times 39=25,75$ g de potassium par kilogramme de matière minérale).

A la différence du potassium, qui semble se concentrer dans la matière minérale de l'extrait aqueux (43 % du potassium initialement contenu dans le co-produit de jambon sec), le magnésium, le zinc et le fer sont peu extraits.

4.2.1.3. *Caractérisation des protéines de l'extrait FPS lyophilisé*

Les protéines de l'extrait FPS représentent 13 % des protéines du co-produit de jambon sec. Ce rendement en protéines extraites correspond au maximum de protéines solubilisées à pH 6-7, déterminé par extraction aqueuse en une heure à 25 °C en milieu dilué (L/S=13,3) et pour une matière finement broyée (§ 2.2 figure 2-4). Ce qui montre l'efficacité du fractionnement aqueux réalisé dans les conditions de l'essai pilote vis-à-vis de l'extraction aqueuse des protéines.

L'analyse de la composition en acides aminés totaux (Figure 4- 2) et en acides aminés libres (Figure 4- 3) de l'extrait FPS lyophilisé révèle plusieurs différences significatives avec celles réalisées pour le co-produit de jambon sec (Figures 2-1 et 2-2).

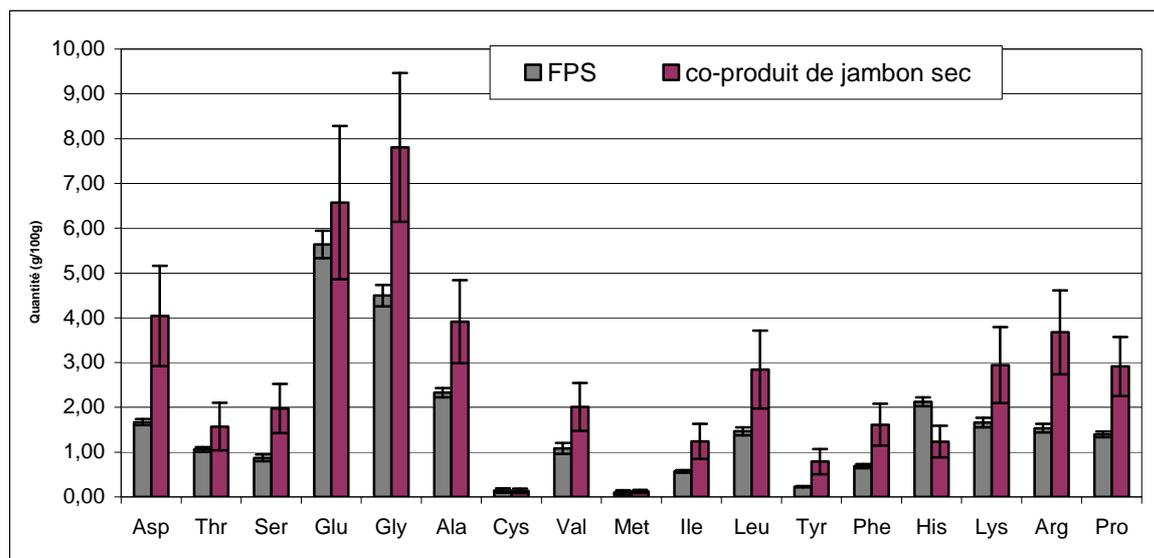


Figure 4- 2 : Répartition des acides aminés totaux (g/100 g de matière sèche) dans la FPS lyophilisée

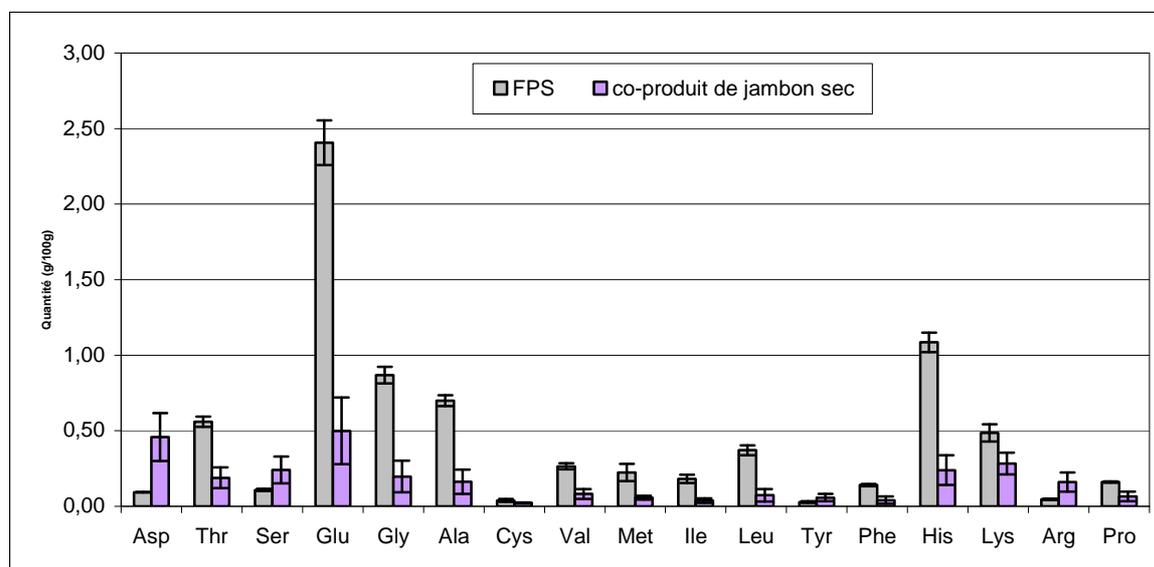


Figure 4- 3 : Répartition des acides aminés libres (g/100 g de matière sèche) dans la FPS lyophilisée

La glycine est l'acide aminé majoritaire, comme dans la structure collagénique (Tableau 4- 4), et les écarts de répartition massique de la plupart des autres acides aminés (asparagine, thréonine, sérine, alanine, méthionine, tyrosine, phénylalanine, lysine), par comparaison du FPS au collagène sont équivalents ou plus faibles que ceux observés dans le cas de la comparaison avec le co-produit de jambon sec (tableau 2-4). Cependant, les excès de glutamine, de valine, d'isoleucine et de leucine associé aux déficits d'arginine et de proline restent des indicateurs de la présence d'autres protéines extraites.

Acide aminé	Collagène*	FPS	Ecart FPS et collagène
Asp	6,4	5,7	-0,7
Thr	2,0	3,2	1,2
Ser	3,5	3,2	-0,3
Glu	10,6	11,9	1,3
Gly	28,8	26,1	-2,7
Ala	12,1	11,6	-0,5
Cys	-	0,3	-
Val	2,7	4,5	1,8
Met	0,7	0,3	-0,4
Ile	1,5	2,2	1,4
Leu	3,3	5,1	2,7
Tyr	0,4	0,4	0,0
Phe	2,0	2,6	0,6
His	-	5,2	-
Lys	3,7	3,6	-0,1
Arg	8,5	3,7	-5,2
Pro	13,8	10,5	-3,3

* collagène de mammifère (Li et al., 2009)

Tableau 4- 4 : Répartition massique des acides aminés de la fraction protéine du FPS par rapport aux acides aminés totaux dans le collagène (% du total des acides aminés)

Remarquons que la proportion de certains acides aminés libres dans la FPS est nettement plus élevée que dans le co-produit de jambon (Tableau 4- 5) traduisant la plus grande extractibilité des monomères et petits peptides, mais aussi sans doute une dégradation partielle par hydrolyse des protéines à 90 °C.

Acide aminé	Co-produit de jambon (% d'AAL dans les AAT)	FPS (% d'AAL dans les AAT)
Asp	11	6
Thr	12	53
Ser	12	12
Glu	8	43
Gly	3	19
Ala	4	30
Cys	17	27
Val	4	24
Met	46	45
Ile	3	32
Leu	3	25
Tyr	7	12
Phe	3	20
His	19	51
Lys	10	29
Arg	4	3
Pro	2	11

Tableau 4- 5 : Proportion d'acides aminés libres par rapport aux acides aminés totaux dans le co-produit de jambon sec et la FPS

Solubles dans une large gamme de pH (4 à 12) (Figure 4- 4), et à plus de 90 % à pH 7, les protéines du FPS peuvent néanmoins être séparées en deux catégories en fonction de leur solubilité dans un tampon phosphate (0,05 M de phosphate de sodium, pH 7,4) en présence de chlorure de sodium (Tableau 4- 6). L'analyse de la composition en acides aminés des fractions solubles et insolubles obtenues dans ces conditions (Figure 4- 5) montre qu'elles sont très proches des fractions protéiques solubles (LIS et HIS) et insolubles (IN) du co-produit de jambon sec ; et bien que leur répartition soit différente, la quasi-totalité des acides aminés libres se retrouve dans les fractions solubles (Figure 4- 6).

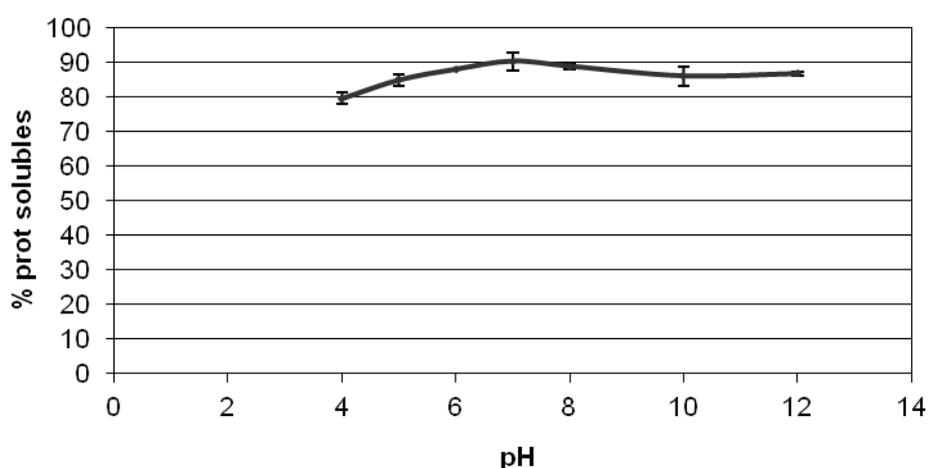


Figure 4- 4 : Courbe de solubilité des protéines de la fraction FPS lyophilisée en fonction du pH

Conditions opératoires	Protéines solubilisées* (%)
FPS 5 % dans l'eau à pH 7, 60 min. à 20 °C	90 ± 3
FPS 20 % dans le tampon phosphate de sodium 0,05 M, NaCl 0,2 M à pH 7,4, 3 h à 4 °C (2 fois)	46 ± 1
Culot de centrifugation à 20 % dans le tampon phosphate de sodium 0,05 M +NaCl 0,6 M 3 h à 4 °C (2 fois)	13 ± 1

* Dosage des protéines dans le surnageant après centrifugation 20 000 g 15 min. à +4 °C

Tableau 4- 6 : Solubilité des protéines de la FPS

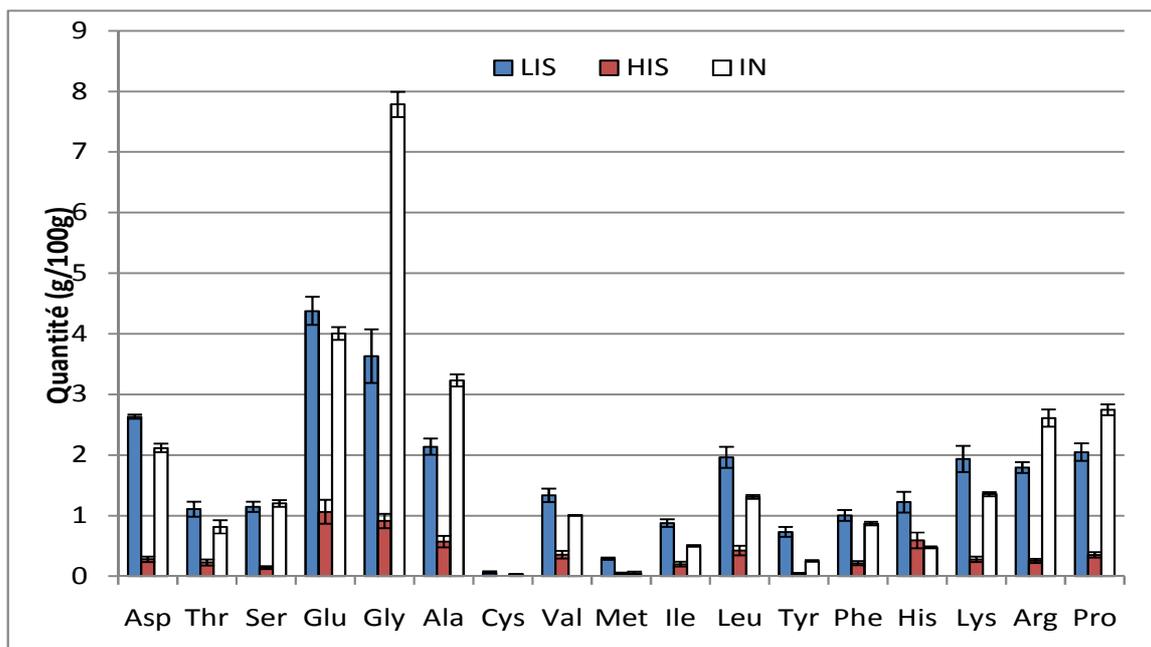


Figure 4- 5 : Composition en acides aminés totaux des catégories de protéines de la FPS (g/100g)

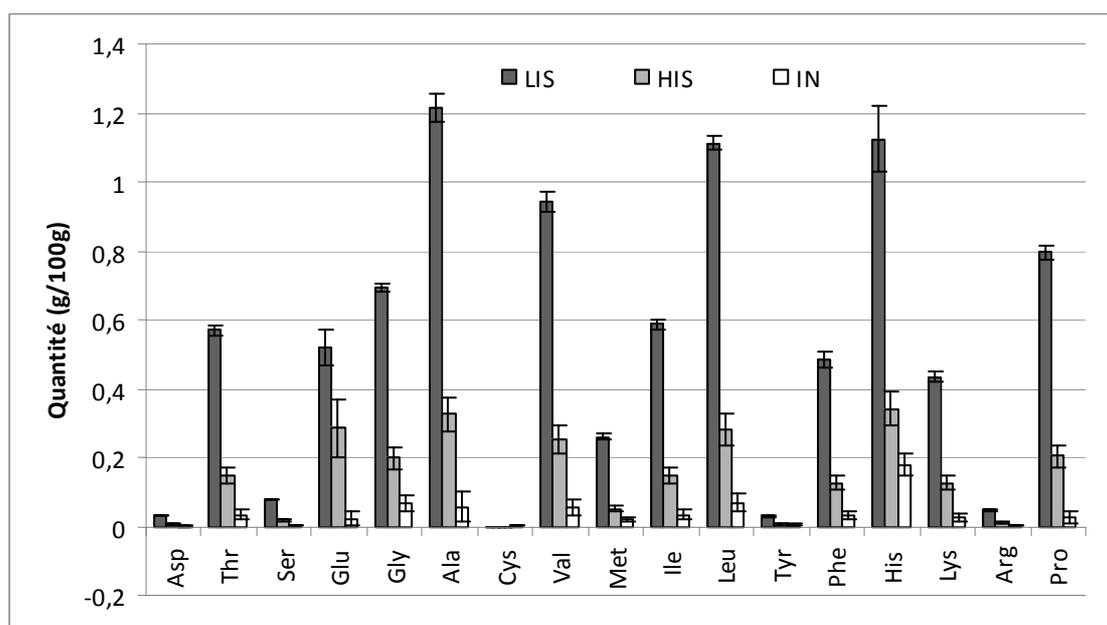


Figure 4- 6 : Composition en acides aminés libres des catégories de protéines de la FPS (g/100g)

La présence de chlorure de sodium dans la FPS lyophilisée (30 % de matière minérale majoritairement constituée de NaCl) ne permet pas de distinguer correctement la fraction LIS de la fraction HIS des protéines (Nuckles et al., 1990). Cependant la composition en acides aminés de la fraction insoluble en tampon phosphate (IN) la rapproche de celle d'un collagène (Tableau 4- 7), avec un taux de glycine certes plus faible.

Acide aminé	Collagène*	IN	Ecart IN et collagène
Asp	6,4	5,6	-0,8
Thr	2,0	2,4	0,4
Ser	3,5	4,1	0,6
Glu	10,6	9,6	1,0
Gly	28,8	36,8	8,0
Ala	12,1	12,8	0,7
Cys	-	0,1	-
Val	2,7	3,0	0,3
Met	0,7	0,1	-0,6
Ile	1,5	1,3	-0,2
Leu	3,3	3,5	0,2
Tyr	0,4	0,5	0,1
Phe	2,0	1,9	-0,1
His	-	1,1	-
Lys	3,7	3,3	-0,4
Arg	8,5	5,3	-3,0
Pro	13,8	8,5	-5,3

* collagène de mammifère (Li et al., 2009)

Tableau 4- 7 : Répartition massique des acides aminés de la fraction insoluble IN de la FPS et dans le collagène (% du total des acides aminés)

4.2.2. Caractérisation physico-chimique de la FPS

4.2.2.1. Propriétés rhéologiques de la FPS en solution dans l'eau

En solution dans l'eau, la FPS présente une activité épaississante (Figure 4- 7) (Partie expérimentale § 5.3.3) comparable à celle d'une colle d'os (Nenonene, 2009). Très faible en milieu dilué (5 % de FPS correspondent à 2,5 % d'équivalent protéique), la viscosité des solutions à 30 °C augmente rapidement en milieu semi-dilué, traduisant l'apparition d'interactions entre les protéines.

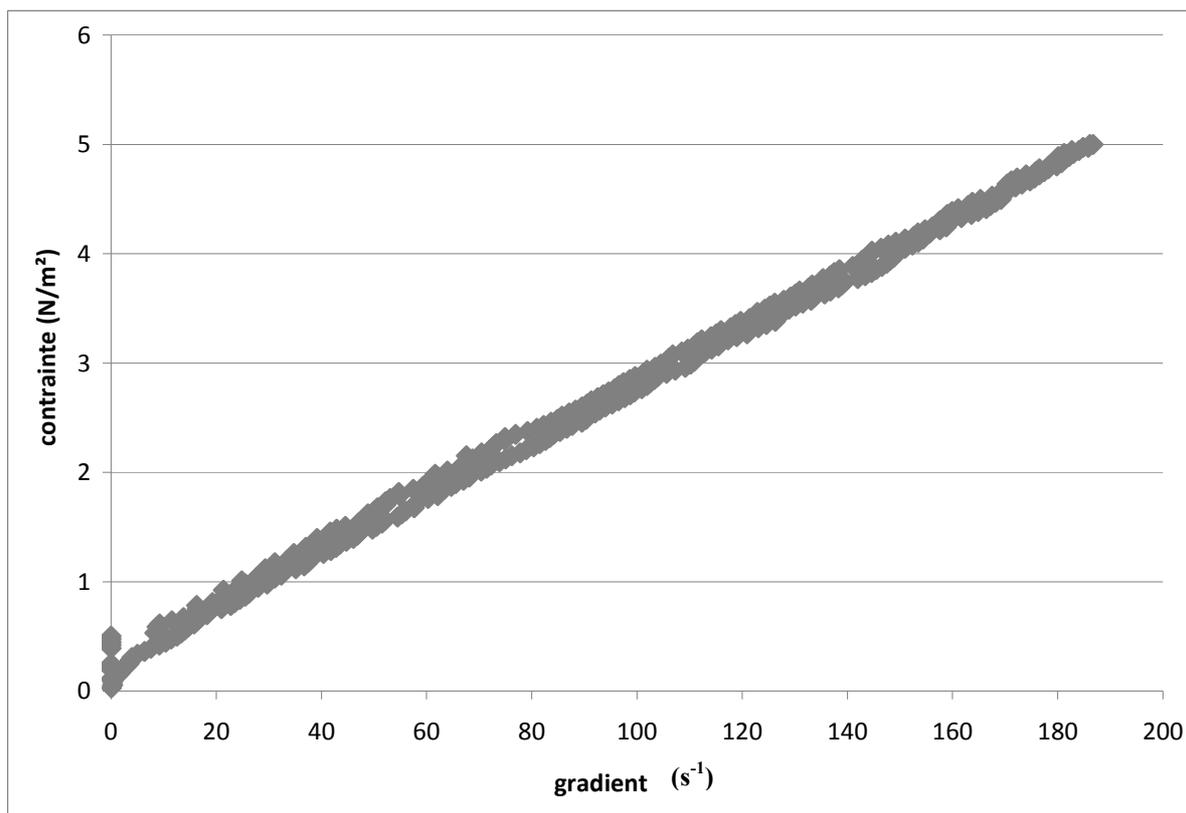


Figure 4- 7 : Courbe d'écoulement d'une solution à 25 % de FPS dans l'eau (température 30 °C)

L'augmentation de la concentration en protéines se traduit par la gélification du milieu, et l'évaporation douce (température ambiante) en couche mince des solutions de FPS (procédé de casting, partie expérimentale § 5.3.4), conduit à la formation de film sous forme de gel mince (Photographie 4- 9) contenant entre 11 et 17 % d'eau par rapport à la matière sèche de FPS, soit 22 à 34 % d'eau par rapport aux protéines (Tableau 4- 8).

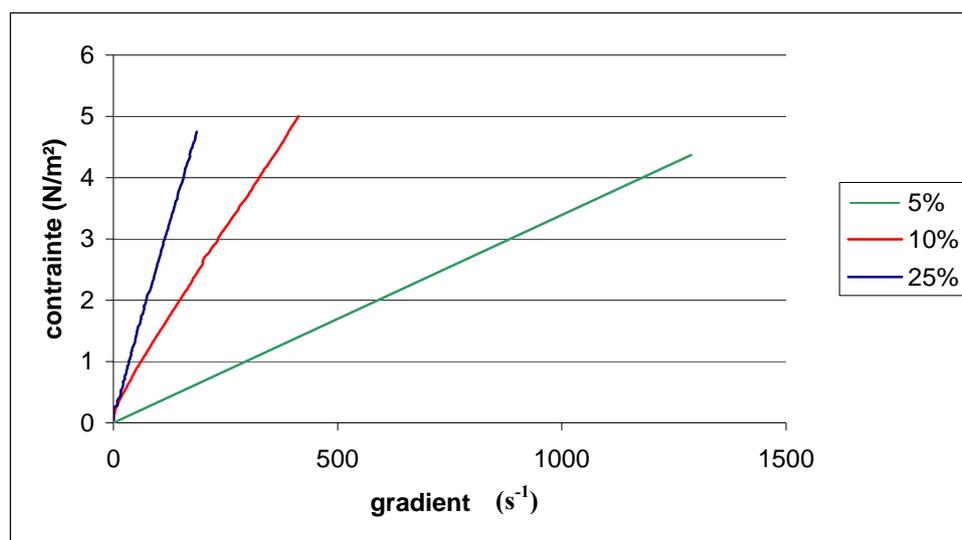


Photographie 4- 9 : Films sous forme de gels minces obtenus par casting à 1, 2, 3, 4, 5 et 10 % en concentration de FPS

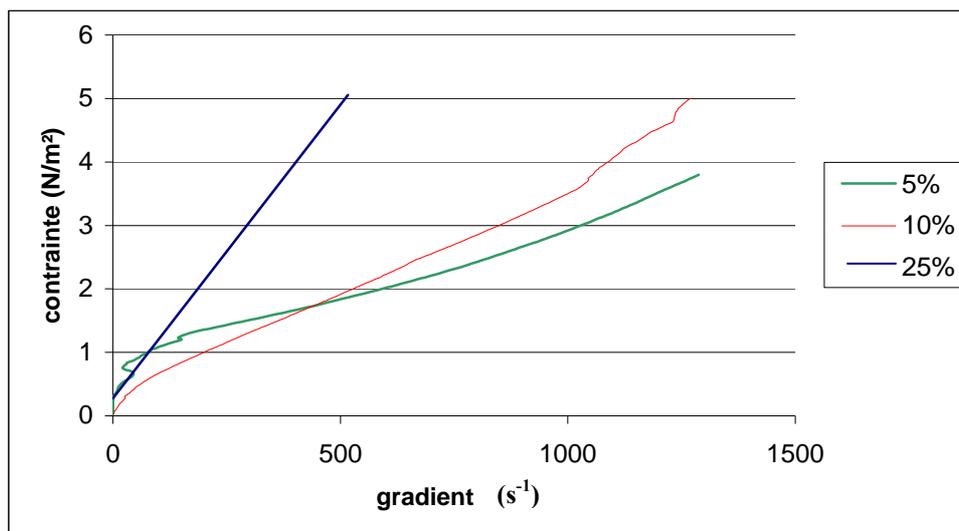
Concentration en FPS dans l'eau (%)	Masse de MS de FPS introduite (g)	Masse de gel formé (g)	Teneur en eau du gel (%)
1	1,08	1,13	11,2
2	2,16	2,36	15,2
3	3,24	3,37	11,0
4	4,32	4,84	17,4
5	5,40	6,03	17,0
10	10,79	11,91	16,0

Tableau 4- 8 : Teneur en eau de gel de FPS formés par casting

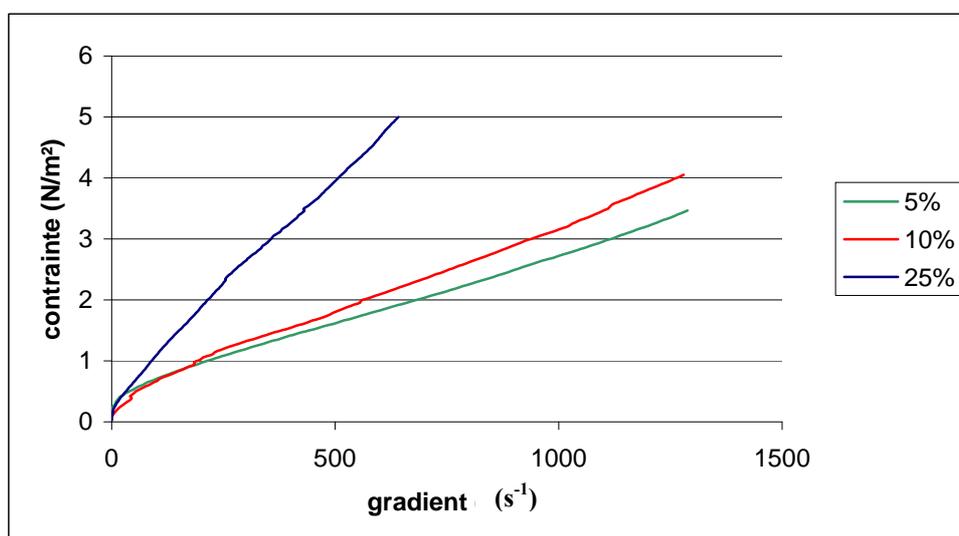
Par ailleurs, si l'augmentation de la température jusqu'à des valeurs de 50 °C tend à diminuer la viscosité des solutions de FPS (Figure 4- 8, Tableau 4- 9), elle conduit à la formation d'une structure fortement gélifiée autour de 80 °C (Figure 4- 9, Tableau 4- 10).



a) A une température de 30 °C



b) A une température de 40 °C



c) A une température de 50 °C

Figure 4- 8 : Courbes d'écoulement de la FPS à une concentration de 5,10 et 25 % dans l'eau et à une température de 30 °C, 40 °C et 50 °C

Concentration en FPS	Température		
	30 °C	40 °C	50 °C
5 %	$2,64 \cdot 10^{-3}$ Pa.s	$2,08 \cdot 10^{-3}$ Pa.s	$2,16 \cdot 10^{-3}$ Pa.s
10 %	$11,5 \cdot 10^{-3}$ Pa.s	$3,09 \cdot 10^{-3}$ Pa.s	$2,64 \cdot 10^{-3}$ Pa.s
25 %	$25,9 \cdot 10^{-3}$ Pa.s	$9,3 \cdot 10^{-3}$ Pa.s	$7,9 \cdot 10^{-3}$ Pa.s

Tableau 4- 9 : Viscosité apparente de solution de FPS dans l'eau

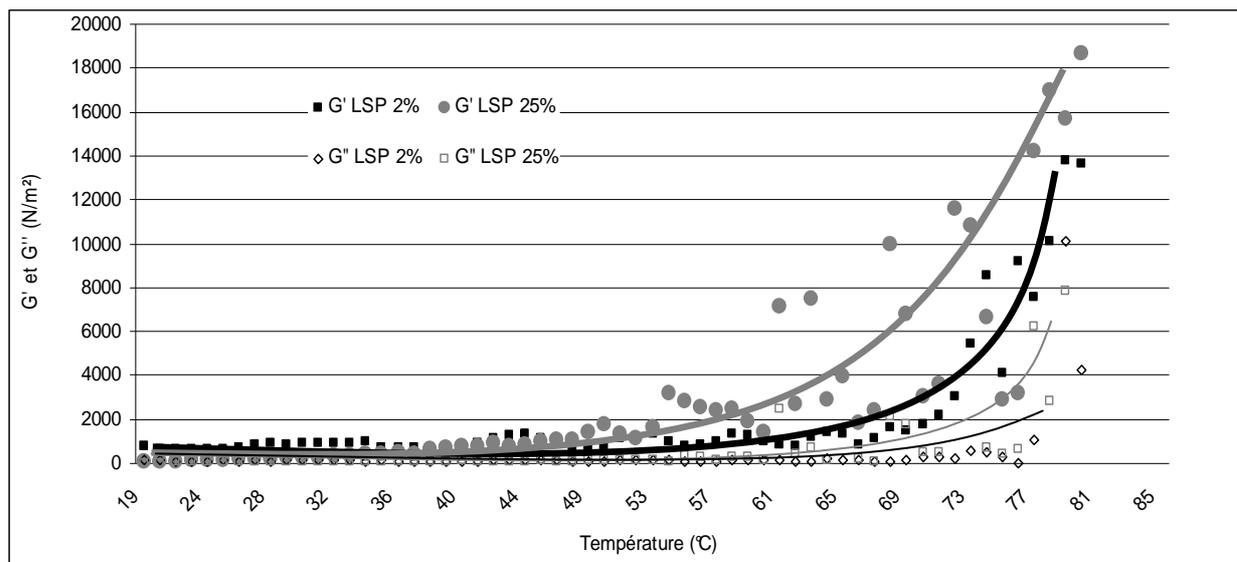


Figure 4- 9 : Evolution du module de conservation G' et du module de perte G'' d'une solution à 2 % et à 25 % de FPS dans l'eau en fonction de la température

Concentration en FPS		Température		
		60 °C	70 °C	80 °C
2 %	$G'(N/m^2)$	989	1755	13614
	$G''(N/m^2)$	125	273	4224
	G''/G'	0,13	0,16	0,31
25 %	$G'(N/m^2)$	1384	3060	18646
	$G''(N/m^2)$	140	524	7821
	G''/G'	0,10	0,17	0,41

Tableau 4- 10 : Effet de la température sur la rhéologie d'une solution à 2 % et à 25 % de FPS

Ce phénomène de gélification sous l'effet de la température, observable même en milieu dilué (2 % de FPS, 1 % de protéines) pourrait expliquer l'influence néfaste d'une augmentation de la température au-delà de 65 °C sur le rendement en protéines extraites lors du fractionnement aqueux (§ 3.4.3.2.2 Figure 3-22).

4.2.2.2. Propriétés interfaciales de la FPS

Comme on pouvait s'y attendre au vu de l'absence d'apparition de mousse lors du fractionnement aqueux du co-produit de jambon sec et de la séparation de l'extrait protéique, les solutions diluées de FPS dans l'eau ne possèdent aucune activité de stabilisation de mousse (partie expérimentale § 5.2.1) (Figure 4- 10), à la différence d'autres protéines d'origine animale ou végétale (Li et al., 2009; Rondel, 2009).

Par contre, elles possèdent une très nette capacité de stabilisation des émulsions huile dans eau (partie expérimentale § 5.2.2), comparable à celle de l'albumine (Figure 4- 11).

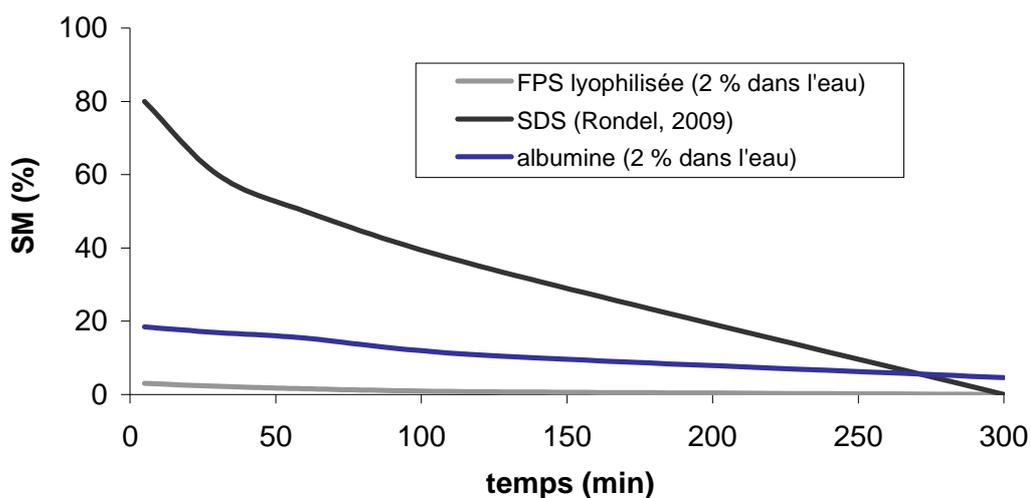


Figure 4- 10 : Stabilité moussante de solution de FPS lyophilisée en comparaison avec le SDS et une protéine de blanc d'oeuf

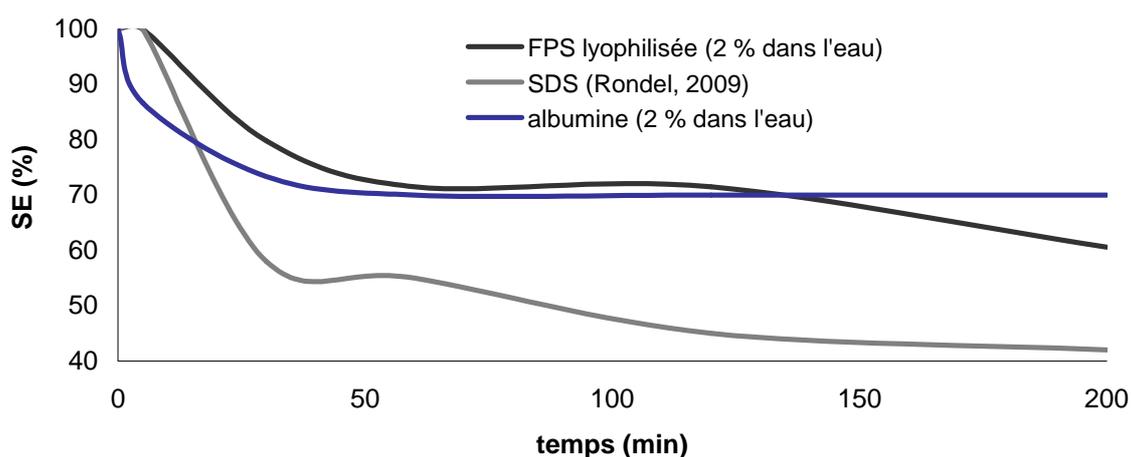


Figure 4- 11 : Stabilité émulsionnante de mélanges obtenus à partir de FPS lyophilisée en comparaison avec le SDS et l'albumine

Cette propriété pourrait indiquer que les protéines solubilisées lors du fractionnement aqueux du co-produit de jambon jouent un rôle favorable pour l'entraînement des lipides dès lors que ces derniers sont à l'état fondu. La séparation par décantation à froid des matières grasses n'est alors pas pénalisée par le caractère tensio-actif des protéines extraites (3 % de lipides résiduels dans la FPS et pas de protéines dans la FMGD), du fait d'une part que la stabilité des émulsions huile-eau diminue dans le temps, et d'autre part que les lipides entraînés à chaud se solidifient à froid.

4.2.2.3. Propriétés thermiques et thermomécaniques de la fraction FPS

Le thermogramme de l'Analyse Enthalpique Différentielle (DSC – partie expérimentale § 5.2.4) de l'extrait FPS lyophilisé (Figure 4- 12) fait apparaître trois évènements thermiques (Tableau 4- 11)

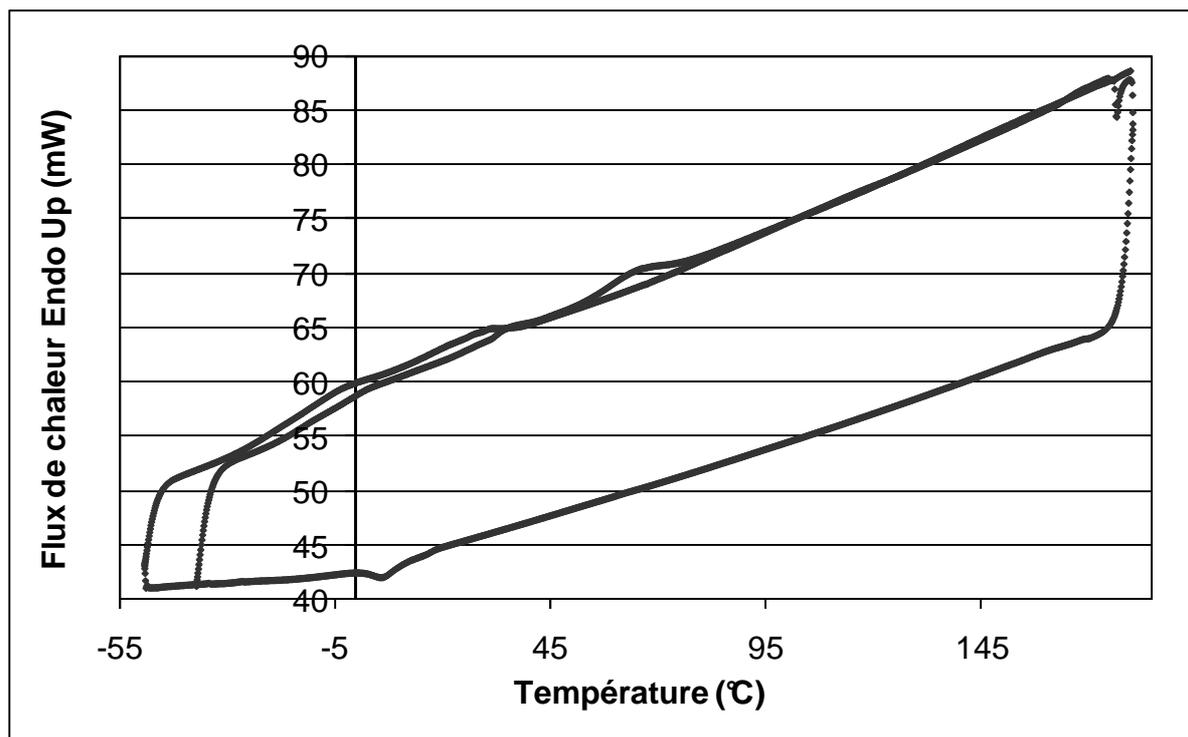


Figure 4- 12 : Thermogramme de l'analyse enthalpique différentielle (DSC) de la fraction FPS lyophilisée

Cycle	Température des maximums de flux (°C)		
	1 ^{ère} montée	Endothermique +5	Endothermique +40
Descente	+5	Absence	Absence
2 ^{de} montée	0 (faible)	+38	Absence

Tableau 4- 11 : Température des transitions thermiques observée sur le thermogramme DSC de la FPS lyophilisée

Bien que les lipides y soient nettement minoritaires, les pics observés au voisinage de 5 et 40 °C pourraient correspondre à la cristallisation et la fonte totale des glycérides qu'ils contiennent. La transition observée à 60 °C à la première montée, mais qui disparaît à la seconde pourrait quant à elle traduire un phénomène de dénaturation thermique des protéines. Ce phénomène est observé à la même température sur le thermogramme de l'Analyse

Mécanique Dynamique (AMD, partie expérimentale § 5.2.5) de la poudre FPS lyophilisée (Figure 4- 13) se traduisant par un changement de pente du module de conservation et une valeur maximum des modules de perte E'' et du facteur de perte $\tan \delta = E''/E'$. Mais à la différence de la DSC, l'AMD permet aussi de mettre en évidence une seconde transition, à une température nettement plus élevée voisine de 140 °C. Ce phénomène pourrait correspondre à une transition vitreuse des protéines, comme plusieurs auteurs l'ont mis en évidence sur des protéines de même nature (Cuq et al., 1997; Slade et al., 1989). La plus faible valeur de la température de transition vitreuse observée pour la FPS par comparaison à ces protéines sèches (215-250 °C pour les protéines myofibrillaires, 200 °C pour la gélatine et 180-210 °C pour le collagène) pourrait être liée à la teneur en eau des protéines du FPS (7 % d'eau) qui provoque un abaissement des températures de transition par plastification des protéines (Rouilly et al., 2001).

L'effet de la température sur le comportement viscoélastique des protéines de FPS a été confirmé par le fait que la FPS s'écoule sous contrainte thermomécanique (Rhéomètre Haake MiniLab, partie expérimentale § 5.2.3) à 160 °C, avec un comportement rhéofluidifiant (Figure 4- 14) typique de biopolymères thermoplastifiés.

Cette propriété fonctionnelle de la FPS pourrait lui ouvrir un nouveau champ d'application dans le domaine des films d'emballage alimentaire comme cela est envisagé pour d'autres protéines comme le gluten du blé, les protéines de soja, le collagène, la zéine du maïs, la caséine du lait ou l'albumine de l'oeuf (Cuq et al., 1998).

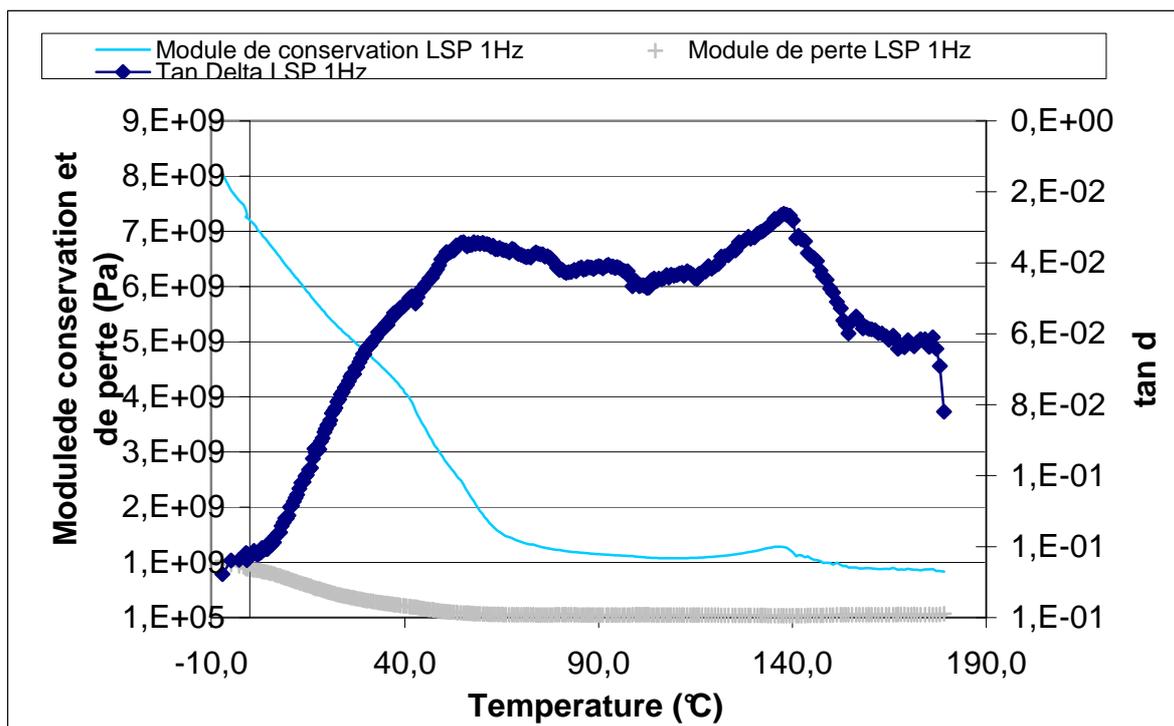


Figure 4- 13 : Profil de l'analyse mécanique dynamique (AMD) de la fraction FPS lyophilisée

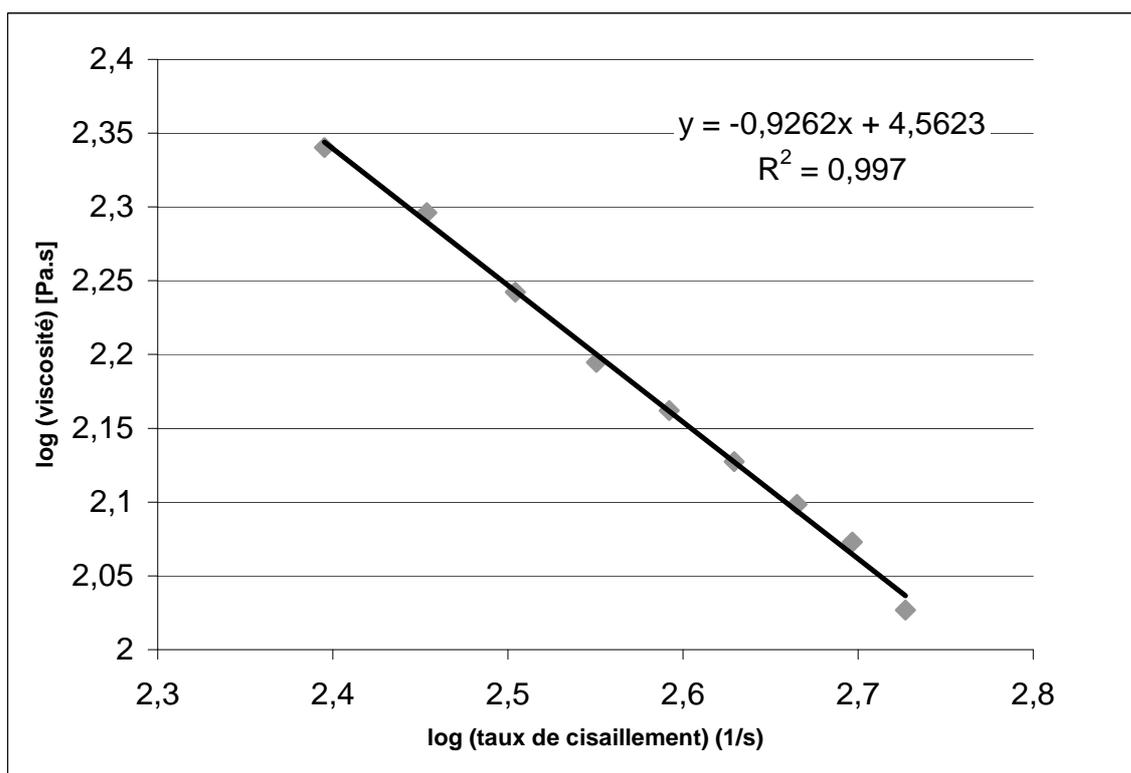


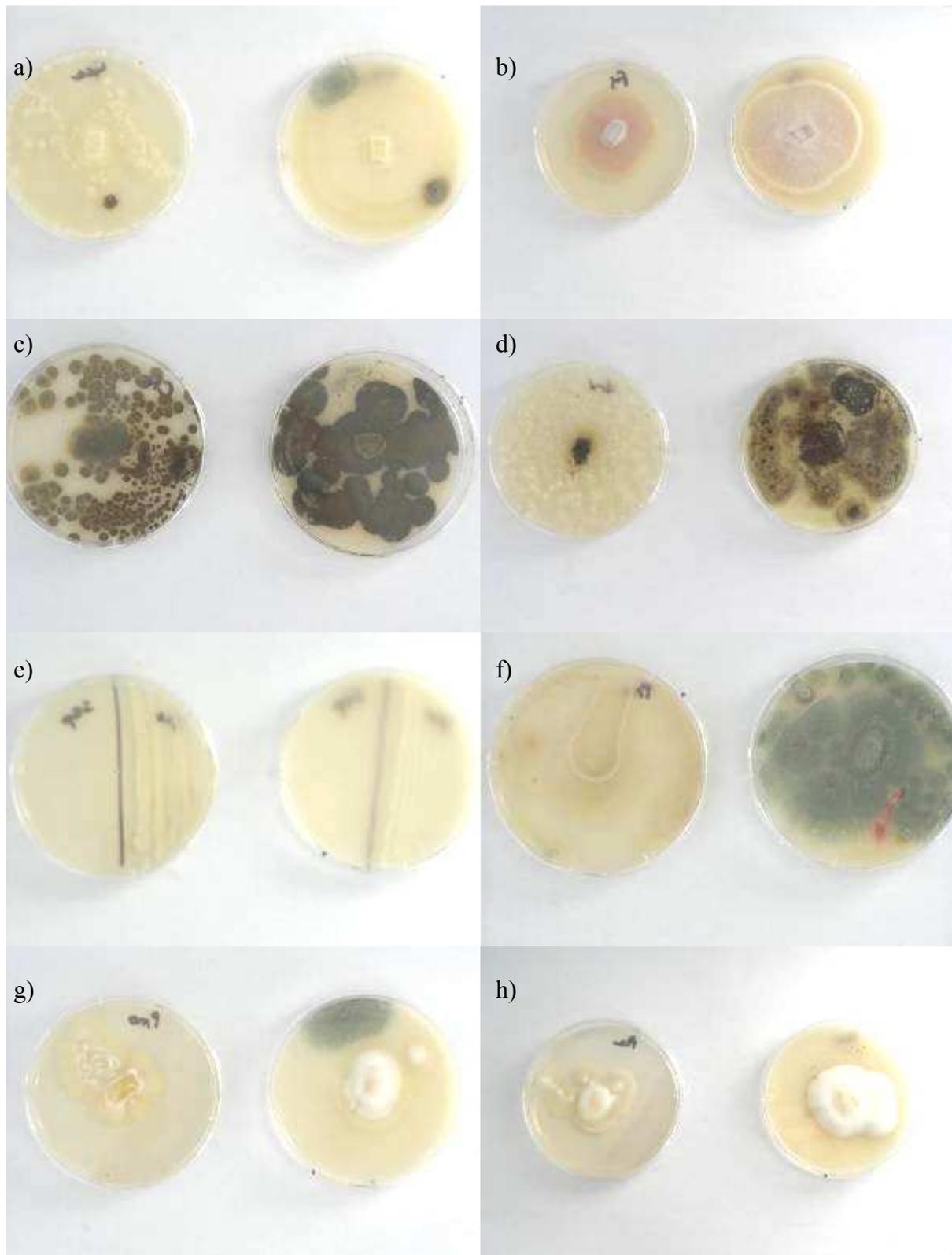
Figure 4- 14 : Viscosité apparente de la FPS lyophilisée en fonction du taux de cisaillement par extrusion au rhéomètre Haake MiniLab

4.2.3. Propriétés fonctionnelles et perspectives d'application de la FPS

Les caractéristiques chimiques et physico-chimiques de la FPS nous ont conduit à tester deux voies d'application.

4.2.3.1. Source de peptones pour la culture de champignons et levures

La fraction FPS contient $27,07 \pm 1,58$ g pour 100 g d'acides aminés, dont $7,76 \pm 0,53$ g pour 100 g sous forme libre. Introduite à 2 % pour la fabrication d'un gel de milieu de culture en substitution d'un peptone de référence (peptone Sigma n° P5905, partie expérimentale § 5.3.5), elle a permis d'observer une stimulation de croissance d'une série de champignons et de levures qui permet une augmentation de la sporulation (Figure 4- 15), particulièrement sensible pour *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger* et *Penicillium roquefortii*.



a) *Geotrichum candidum* b) *Fusarium oxysporum* c) *Cladosporium herbarum* d) *Aspergillus niger*
e) *Saccharomyces cerevisiae/Saccharomyces epidermidis* f) *Penicillium roquefortii* g) *Penicillium notatum* h) Plate Count Agar

Figure 4- 15 : Boîtes de Pétri représentant le développement de populations fongiques dans des milieux utilisant la FPS lyophilisée (sur la droite de chaque prise de vue) en comparaison avec une solution de référence Sigma (sur la gauche de chaque prise de vue)

Malgré quelques inconvénients au niveau de la manipulation en laboratoire (coloration du milieu, déshydratation et fragilisation du milieu gélifié, odeur prononcée), qui pourraient être minimisés par la purification de l'extrait protéique (deminéralisation, décoloration), ces propriétés gélifiantes et nutritionnelles de la FPS pourraient lui ouvrir une application à forte valeur ajoutée comme source de peptones dans la production biotechnologique de champignons d'intérêt industriel (*Saccharomyces cerevisiae* est une levure utilisée pour la fermentation des sucres, *Penicillium roquefortii* est un champignon employé pour la fabrication de fromages bleus).

4.2.3.2. Adhésif naturel

Les propriétés rhéologiques en solution et l'aptitude à former des gels cohérents par casting de la FPS laissent augurer d'une propriété fonctionnelle d'adhésivité. Cette activité collante a été validée dans le cas d'un test standardisé d'assemblage bois-bois (partie expérimentale § 5.2.6.1), par comparaison avec une colle commerciale de peau de lapin (Tableau 4- 12)

Colle	Grammage d'induction (g/m ²)	Force à rupture
FPS à 20 % dans l'eau (soit 10 % de protéines)	85,7	922 ± 43 N
Colle de peau de lapin à 20 % dans l'eau (Caseo)	85,7	1880 ± 420 N

Tableau 4- 12 : Résistance à rupture d'un assemblage bois-bois par collage pour une solution de FPS à 20 % dans l'eau.

Bien que de moitié plus faible que celle observée pour la colle à base de gélatine de peau, la résistance à rupture obtenue pour la FPS reste suffisamment élevée pour envisager des applications en assemblage papier et carton, voire l'assemblage en transformation charcutière, par exemple en remplacement de la thrombine largement interdite dans l'industrie de la viande reconstituée en Europe (Journal Officiel de l'Union Européenne, 19 mai 2010) ou des carraghénanes (Resurreccion, 2004).

4.2.3.3. Autres voies de valorisation

La teneur en GAG de la FPS lyophilisée est de $3,42 \pm 0,27$ mg par gramme de matière sèche. Ce qui permet de la considérer comme un concentrat protéique riche en GAG sulfatés.

Par analogie avec les crèmes de massage pour les articulations à base de chondroïtine sulfate, et associée aux propriétés émulsifiantes des protéines, la fraction FPS pourrait intéresser le secteur de la cosmétique. Cette application potentielle nécessiterait bien sûr l'étude de la purification de l'extrait FPS (déméralisation, décoloration) et sa désodorisation.

En effet les propriétés de rétention des composés organiques volatils (COV) par les protéines (Guichard, 2005) sont connues. Elles dépendent de la nature de la protéine et du composé volatil, mais également de la température et du pH (Taylor, 1998), et les liaisons peuvent être dues à l'affinité des composés pour l'eau (Walch, 2002) et leur caractère hydrophobe ou hydrophile. Le type de liaison entre les protéines et les arômes a une incidence sur la rétention de composés volatils, et il existe par exemple des liaisons de type covalente entre les aldéhydes et les protéines (Meynier et al., 2004). En particulier plusieurs travaux (Gianelli et al., 2003; Pérez-Juan et al., 2006; Pérez-Juan et al., 2007) ont mis en évidence la forte capacité de rétention de protéines sarcoplasmiques vis-à-vis de l'hexanal, qui est l'un des composés aromatiques présents dans le co-produit de jambon sec (§ 2.5.2).

Dans le cas de la FPS, ces interactions de l'hexanal avec les différentes fractions protéiques qui la composent ont été confirmées par l'étude de la teneur en hexanal libre de solutions de concentration croissante en FPS ou en fraction protéique soluble dans l'eau (LIS et HIS) (partie expérimentale § 5.1.5.2 et 5.1.5.4). Quelle que soit la fraction protéique, la concentration en hexanal libre diminue avec l'augmentation de la concentration en protéines de la solution (Figure 4- 16).

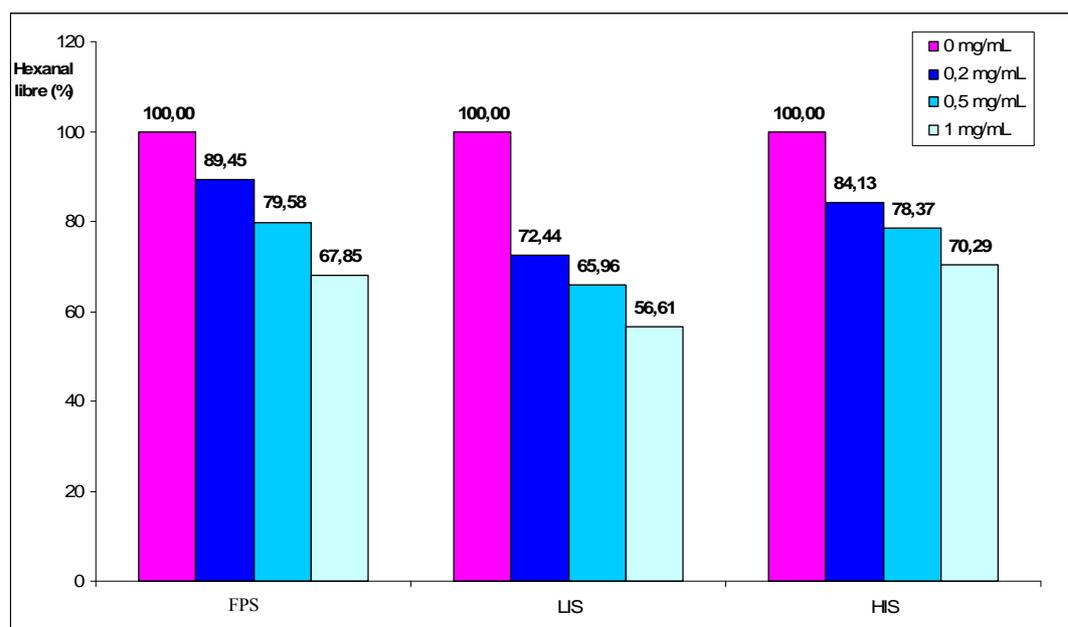


Figure 4- 16 : Mesure de l'hexanal libre dans les protéines de FPS solubles, pour des concentrations en hexanal dans l'échantillon de 0 ; 0,2 ; 0,5 et 1 mg/ml.

Cette interaction COV-protéines est à l'origine de l'absence de résultats exploitables pour nos essais de caractérisation des arômes de la fraction FPS lyophilisée, quelle que soit la technique d'extraction testée (SPME, extraction liquide/solide, Head Space dynamique). Cependant, les propriétés de rétention d'arômes et de COV de la FPS qui posent problème pour sa désodorisation pourraient s'avérer très intéressante pour la formulation d'aromatisants à relargage différé (encapsulation, aromatisant de cuisson, etc.).

4.3. Caractérisation de la fraction matière grasse déca

La fraction matière grasse déca est la fraction des lipides du co-produit de jambon sec entraînée lors de l'extraction liquide/solide par l'eau, séparée par déca à froid du filtrat et récupérée par écrémage du surnageant. L'extrait ainsi obtenu est à 90 % de matière sèche, et se présente sous forme d'un solide pâteux homogène, de couleur jaune pâle (Photographie 4- 5). Il contient 93 % de lipides, des traces de protéines et pas de matière minérale.

4.3.1. Caractérisation chimique de la FMGD

L'analyse de la répartition en mono, di et triglycérides de la matière grasse déca (Tableau 4- 13) montre par comparaison avec celle dans les lipides extraits à l'hexane du co-produit de jambon sec (tableau 2-7) que la proportion d'acides gras libres y est plus faible (6,7 %) pour une proportion de triglycérides plus élevée (75 %).

écriture simplifiée	Nature	Fraction grasse (g/100 g de corps gras)
C16 :0	acides gras libres	1,9 ± 0,1
C18 :0		4,8 ± 0,2
C16 :2	diglycérides	2,7 ± 0,1
C18 :2		1,5 ± 0,1
T46	triglycérides	1,5 ± 0,1
T48		1,9 ± 0,3
T49		Nd
T50		12,6 ± 0,6
T51		0,8 ± 0,3
T52		45,6 ± 1,2
T53		0,8 ± 0,0
T54		11,7 ± 2,2
TOTAL		85,8

Tableau 4- 13 : Composition glycéridique de la FMGD

De même, l'analyse de la composition en acides gras de la matière grasse décantée (Tableau 4- 14) montre que les proportions d'acides gras saturés (45 %), mono insaturés (46 %) et polyinsaturés (9 %) sont plus élevées que dans les lipides extraits à l'hexane du co-produit de jambon sec (Tableau 2- 8 : respectivement 41, 41,5 et 6 %). Ils y représentent la totalité des acides gras totaux. Ce sont surtout les acides palmitique (+3,5 % de C16 :0) et stéarique (+2 % de C18 :0), oléique (+5,5 % de C18 :1) et linoléique (+3 % de C18 :2) dont les proportions ont significativement augmenté, et qui se retrouvent essentiellement sous forme de triglycérides, ce qui expliquerait l'augmentation de leur proportion.

Il apparaît donc que l'extraction aqueuse et surtout la séparation par décantation à froid permet d'obtenir une fraction grasse plus pure en triglycérides et moins riche en acides gras libres. Sa composition originale en acides gras, avec un rapport saturé/insaturé de 45/55=0,5, la situe entre le beurre de cacao (C16 :0=24 % et C18 :0=35 %, C18 :1=39 % et C18 :2=2 %) et une huile de palme (C16 :0=45 % et C18 :0=4 % ; C18 :1=40 % et C18 :2=10 %).

Ecriture simplifiée	Nom commun	Composition (g/100 g d'acides gras)
C10 :0	ac. caprique	1,4±0,0
C14 :0	ac. myristique	1,4±0,1
C16 :0	ac. palmitique	27,3±0,2
C18 :0	ac. stéarique	15,0±0,1
Total saturés		45,1±0,4
C16 :1	ac. palmitoléique	2,6±0,1
C18 :1	ac. oléique	43,8±0,5
Total monoinsaturés		46,4±0,6
C18 :2 (ω6)	ac. linoléique	7,6±0,1
C18 :3 (ω3)	ac. g linoléique	1,4±0,0
Total poly-insaturés		8,9±0,1
Polyinsaturés/total		0,09

Tableau 4- 14 : Composition en acides gras de la FMGD

4.3.2. Caractéristiques physicochimiques de la FMGD

Les caractéristiques physicochimiques de la fraction matière grasse décantée sont rassemblées dans le Tableau 4- 15.

Indice	Fraction grasse
Indice d'acide	20,3 ± 0,2 mg KOH/g
Indice d'iode	67,7 ± 0,5 g/100g
Indice de P-anisidine	61,2 ± 0,6
Indice de peroxyde	36,5 ± 1,1 meq d'oxygène actif/Kg
Indice de saponification	198,8 ± 1,9 mg KOH/g
Indice tottox	134,2
Insaponifiables	0,98 ± 0,05 %

Tableau 4- 15 : Caractéristiques physico-chimiques de la FMGD

Comparée aux caractéristiques de la fraction lipidique extraite à l'hexane du co-produit de jambon sec (tableau 2-6), la fraction matière grasse décantée est totalement liquide et limpide à 40 °C. Son indice d'acide est plus faible (2 %) pour un indice d'iode un peu plus élevé, en accord avec la moindre proportion d'acide palmitique et stéarique libre dosés (Tableau 4- 13) et la plus forte proportion d'acide oléique et linoléique (Tableau 4- 14). L'indice de saponification est voisin de ceux relevés dans la littérature pour le saindoux ou la matière grasse osseuse (Tableau 1-30). Par contre, l'indice de peroxyde est plus faible, alors que celui en p-anisidine est plus élevé que dans l'extrait lipidique à l'hexane du co-produit de jambon sec. Ce qui pourrait indiquer que l'extraction aqueuse et la séparation par décantation

limite la dégradation des acides gras di-insaturés, dont la proportion est effectivement plus élevée, mais est aussi favorable à l'extraction des composés alcools, aldéhydes et acides issus de cette dégradation, et connus pour être responsables des propriétés aromatiques des corps gras (Cerny, 2007).

4.3.3. Propriétés fonctionnelles et perspectives d'application de la FMGD

Les caractéristiques physico-chimiques et la composition de la fraction matière grasse décantée permettent d'envisager plusieurs voies de valorisation dans le domaine de l'alimentaire, de l'énergie et de la chimie.

4.3.3.1. Valorisation pour l'alimentaire

La composition en acides gras et les principales caractéristiques physicochimiques de la FMGD sont proches d'un saindoux (Tableau 1-30), ce qui lui ouvrirait à priori les mêmes perspectives d'application dans de multiples formulations de produits agroalimentaires ou pour l'alimentation animale. Son faible indice d'acidité, associé à une teneur en acide linoléique (C18 :3) inférieure à 2 % autoriserait son utilisation pour la friture (Décret 2008-184 du 26 février 2008). Sa teneur en stérols totaux, déterminée à 1,7 g/kg (partie expérimentale § 5.1.4.8), supérieure à celle d'une huile de palme (0,8 à 1,2 g/kg) (Gunstone et al., 1997) nécessiterait une analyse plus fine de la nature de ces stérols, connus pour leur caractère antioxydant (Gordon et al., 1983), et en particulier de la proportion de β -sitostérol, connu pour son effet inhibiteur de l'adsorption intestinale du cholestérol (Lutjohann et al., 1995). Mais ce sont sans doute les propriétés aromatiques de cette matière grasse, essentiellement liées à son origine d'extrait de jambon sec, qui lui apportent une spécificité pour des applications en alimentaire.

En effet, 19 composés organiques volatiles (COV) ont été identifiés par GC-MS de l'espace de tête de la matière grasse décantée (partie expérimentale § 5.1.5). Les arômes identifiés correspondent à 4 acides carboxyliques, 7 aldéhydes et 3 cétones, 4 alcools et 1 dérivé furanique (Tableau 4- 16).

<i>Trmoy (min)</i>	<i>IR calculé a</i>	<i>IR théorique b</i>	<i>Composé</i>	<i>Note odorante</i>
4,76	781	766	1-Pentanol	Fruit, balsamique
5,49	807	801	Hexanal	Graisse, herbe, suif
7,16	877	851	1-Hexanol	Résine, légumes verts
7,68	896	895	2-Heptanone	Savon
8,04	910	903	Heptanal	Graisse, rance
10,01	980	962	1-Heptanol	Champignon
10,32	989	982	1-Octen-3-ol	Champignon
10,59	998	993	2-Pentylfurane	Beurre, haricots
10,76	1003	999	Acide hexanoïque	Fromage, chèvre, cuir
11	1012	1006	Octanal	Graisse, agrumes
12,67	1071	1060	2-Octenal	Noix, feuillage
13,62	1099	1093	2-Nonanone	Savon, lait chaud
14,05	1115	1104	Nonanal	Graisse, agrumes
16,57	1205	1190	2-Decanone	Agrumes
17,02	1217	1209	Decanal	Savon, suif
20,22	1334	1317	2,4-Decadienal	Graisse, cire
21,55	1384	1373	Acide 9 octanoïque	Fromage, sueur, graisse
34,65	-	1733	Acide decanoïque	Graisse, rance
36,18	-	1963	Acide hexadecanoïque	Cire, peu d'odeur

Tableau 4- 16 : Composés aromatiques de la matière grasse

L'origine biochimique de ces composés est connue (Berdagué et al., 1991; Cerny, 2007). La lipolyse des triglycérides (et des phospholipides) conduit à la formation d'acides carboxyliques à longue chaîne (acide hexadécanoïque et acide décanoïque), qui s'oxydent facilement en acides carboxyliques à plus courtes chaînes (acide octanoïque et acide hexanoïque), en alcools et cétones. Les aldéhydes et l'octen-3-ol se forment à partir de l'oxydation des acides gras insaturés. Ils jouent un rôle important avec des seuils de détection d'odeur très faibles (Gianelli et al., 2002). L'hexanal est l'aldéhyde majoritaire, formé par l'oxydation de l'acide linoléique. Certains alcools et cétones peuvent être issus de la dégradation de Strecker, c'est-à-dire de l'oxydation des acides aminés. Le 2-pentylfurane est un hétérocycle probablement produit au cours de la réaction de Maillard (Barbieri et al., 1992). Tous ces composés sont cités dans la littérature comme composés volatils présents dans l'espace de tête du jambon. Ils représentent environ 60 % des arômes majoritaires du jambon (García-González et al., 2008), les autres COV correspondant alors essentiellement à des composés soufrés et à des pyrazines qui sont spécifiques de la viande (Sánchez-Peña et al., 2005).

Les COV directement identifiés dans l'espace de tête de la FMGD forment un sous ensemble de ceux analysés à partir du co-produit de jambon sec (§ 2.5.2 Tableau 2- 12). Au-delà des composés volatils majoritaires comme l'hexanal, l'octanal, l'acide 9-octanoïque et hexadécanoïque, communs aux graisses animales (Berdagué et al., 1991; Kondjoyan et al., 1997), plusieurs autres COV apportent des notes odorantes spécifiques à la FMGD comme le 1-pentanol (note fruitée, balsamique), ou le 2-octenal (note noix, feuillage).

Globalement, l'odeur de la FMGD, qui peut dans une certaine mesure être qualifiée d'appétante en particulier à chaud, rappelle fortement celle du jambon sec. Cette matière grasse pourrait donc être avantageusement exploitée dans des préparations culinaires, des assemblages de viandes par exemple les saucissons ou saucisses, les pâtés, comme les rillettes, ou encore de biscuits apéritifs aromatisés.

Les composés aromatiques du co-produit de jambon extraits par SDE, identifiés au nombre de 57 (Figure 4- 17), sont regroupés en familles majoritaires d'aldéhydes, d'hydrocarbures, de terpènes, de furanes, d'esters, d'alcools et de lactones. 23 d'entre eux sont présents dans les analyses de viande de porc fraîche relevées dans la littérature (Ramarathnam et al., 1991; Vasta et al., 2007; Wettasinghe et al., 2001) et 24 ont déjà été identifiés dans le jambon sec (Barbieri et al., 1992; Berdagué et al., 1991; Gianelli et al., 2002; Pérez-Juan et al., 2006; Ruiz et al., 1999; Toldra et al., 1998) (Tableau 4- 17).

Les COV sont étudiés sur deux FMGD, l'une obtenue dans les conditions d'extraction décrites tout au long de ce chapitre (ratio liquide/solide de 3,25, durant 30 min à 90 °C), ce qui correspond à la production 1, l'autre obtenue dans des conditions différentes (ratio liquide/solide de 4, durant 90 min à 90 °C), qui correspond à la production 2.

Comme pour l'extraction des protéines, des lipides et des GAG, les conditions opératoires ont une incidence sur les composés extraits et leur quantité. Ainsi, une extraction effectuée sur une plus longue durée (90 min) permet d'obtenir 51 mg/g de matière sèche soit 42,5 % de la masse de composés extraits du co-produit de jambon sec, tandis qu'une extraction plus courte (production 1, dont la durée est de 30 min), ne permet d'extraire que 9 mg/g de COV par g de matière sèche, soit 7,5 % de la masse de composés extraits du co-produit de jambon sec. On observe également, pour une durée d'extraction plus élevée, une plus grande diversité des composés, qui est probablement due à l'accélération des réactions de dégradation des lipides et des protéines et donc à la génération de COV, comme le γ -nonalactone (1,8 %) ou le 2-dodecenal (9,6 %).

En plus des composés déjà présents dans le co-produit initial et également présents dans la FMGD (hexanal, octenal, 2-pentylfurane, (E)2-nonenal, etc.), les conditions d'extraction permettent la génération de COV qui n'ont pas ou peu été détectés sur le co-produit, c'est le cas du (E)-2-decenal et du (E,Z)-2,4-decadienal.

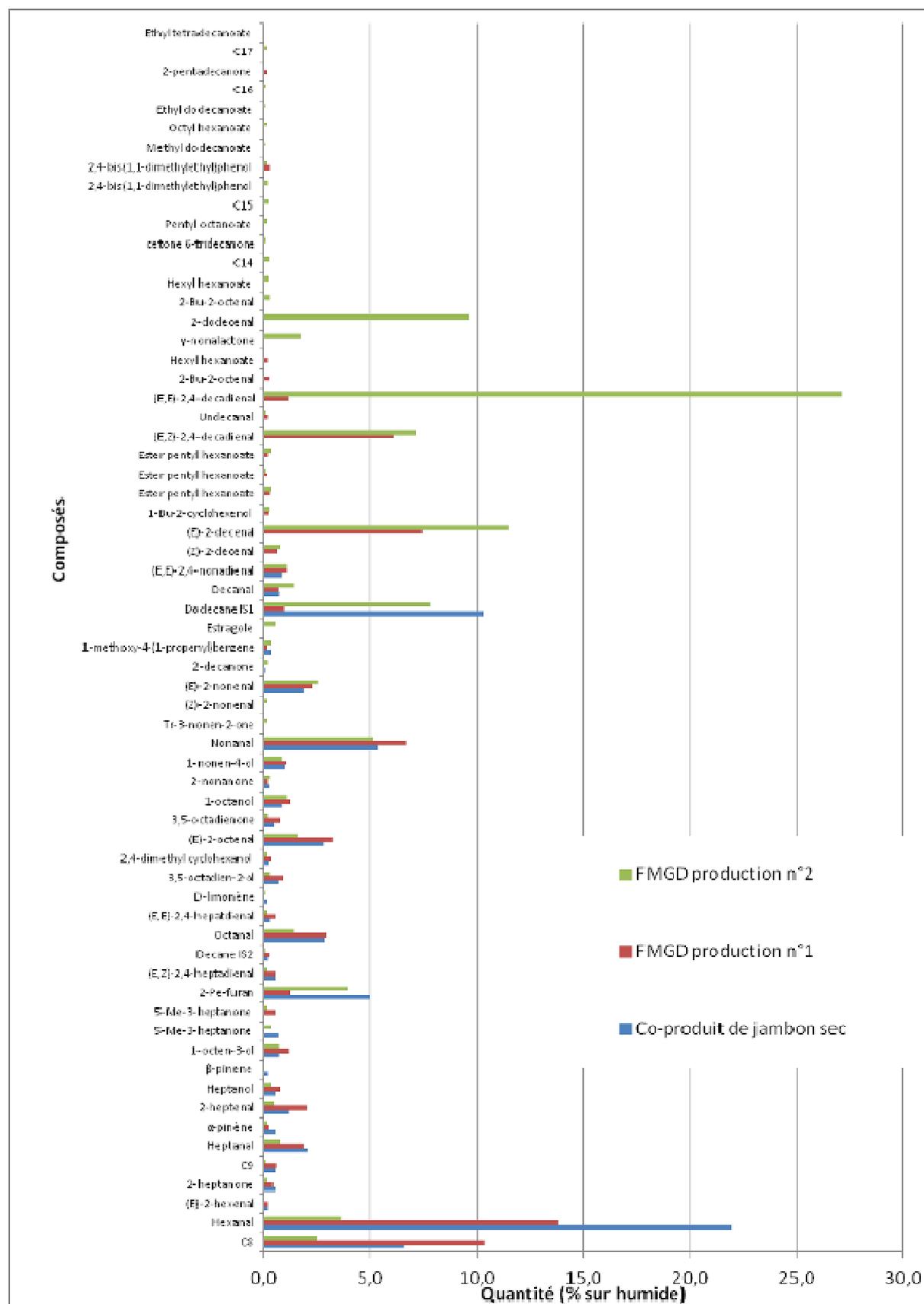


Figure 4- 17 : Identification des composés organiques volatils de la FMGD en comparaison avec le co-produit de jambon sec

Chapitre 4 : Caractérisation et étude des propriétés fonctionnelles des fractions issues du fractionnement aqueux du co-produit de jambon sec

Composé aromatique	Co-produit de jambon sec	Viande de porc	Jambon sec
HYDROCARBURES : n-Alcanes			
Octane	X	X	X
Nonane	X	X	X
Decane	X	X	X
Dodecane	X	X	X
Tétradécane	X		
Pentadécane	X	X	X
Cétane	X		
Heptadécane	X	X	X
HYDROCARBURES : aromatiques			
1-methoxy-4-(1-propenyl) benzène	X		
Estragol	X		
TERPENES			
α -pinène	X		X
β -pinène	X		X
Limonène	X		X
ALDEHYDES : aliphatiques			
Hexanal	X	X	X
(E)-2-hexenal	X	X	
Heptanal	X	X	X
(E)-2-heptenal	X	X	X
(E,Z)-2,4-heptadienal	X		
Octanal	X	X	X
(E,E)-2,4-heptadienal	X		
(E)-2-octenal	X	X	X
Nonanal	X	X	X
(E)-2-nonenal	X		X
(Z)-2-nonenal	X		X
Décanal	X	X	X
(E)-2-decenal	X	X	
(Z)-2-decenal	X	X	
(E,E)-2,4-nonadienal	X		
(E,Z)-2,4-decadienal	X		
(E,E)-2,4-decadienal	X	X	
Undecanal	X	X	X
2-Bu-2-octenal	X		
2-dodecenal	X		
CETONES : Aliphatiques			
2-heptanone	X		X
5-Me-3-heptanone	X		
3-octen-2-one	X		
(E,E)-3,5-octadienone	X		
2-nonanone	X		X
Tr-3-nonen-2-one	X		
2-decanone	X		
6-tridecanone	X		
2-pentadecanone	X	X	
ALCOOLS : Aromatiques			
Heptanol	X	X	
1-octanol	X	X	X

1-octen-3-ol	X	X	X
2,4-dimethyl cyclohexanol	X		
1-Bu-2-cyclohexenol	X		
2,4-bis (1,1-diMeEt) phenol	X		
FURANES			
2-pentyl furan	X	X	X
ESTERS ALIPHATIQUES			
Ester pentylhexanoate	X		
Hexylhexanoate	X		
Pentyl octanoate	X		
Methyl dodecanoate	X		
Octyl hexanoate	X		
Ethyl dodecanoate	X		
Ethyl tetradecanoate	X		
LACTONES			
γ -nonalactone	X		

Tableau 4- 17 : Identification des composés aromatiques identifiés dans les extraits de co-produit de jambon sec présents également dans la viande de porc fraîche et le jambon sec d’après la littérature

4.3.3.2. Valorisation pour l’énergie

Les indices de saponification I_s et d’iode I_i , permettent de calculer le pouvoir calorifique inférieur (P_{CI}), correspondant à l’énergie issue de la combustion de la matière grasse sèche, grâce à la relation empirique $P_{CI}=11380-I_i-9,15I_s$ (Haidara, 1996). La valeur obtenue pour la FMGD est de 9493 kcal/kg soit 39,74 MJ/kg proche du P_{CI} d’une huile végétale comme celle de Jatropha (40,6 MJ.kg⁻¹), du tournesol (37,1 MJ.kg⁻¹) ou du colza (37,6 MJ.kg⁻¹) (Mehta et al., 2009), et un peu plus faible que celle d’un gazole (44,9 MJ.kg⁻¹). Cette donnée, qui doit cependant être pondérée par le fait que la matière grasse décantée contient 10 % d’eau, ce qui abaissera son pouvoir calorifique, et que les lipides y représentent 93 % de la matière sèche, permet cependant de situer l’intérêt d’une valorisation énergétique de cette fraction. Sa faible acidité, associée à l’absence de minéraux, ainsi que son aspect liquide dès 30 °C sont des facteurs favorables à son utilisation en chaudière.

La FMGD pourrait aussi être une matière première alternative pour la production de biodiesels et de biocarburants. Les bilans énergétiques publiés par l’ADEME comparant divers types de biocarburants placent les biodiesels d’huile animale en tête (ADEME, 2010), devant les biodiesels d’origine végétale.

4.3.3.3. Valorisation lipochimique

Une valorisation traditionnelle des matières grasses animale est la fabrication de savons (Thomssen, 1922). Avec un indice de saponification proche de 200 mgKOH/g, comme le saindoux, le suif et de nombreuses huiles végétales, la FMGD est une matière

première adaptée à la fabrication de savons. Un essai de saponification par la soude (136 mg de NaOH pour 1 g de FMGD sèche, 30 minutes à 60 °C, partie expérimentale § 5.2.8) a permis d'obtenir un savon (Photographie 4- 10), de bonne qualité de dureté et d'onctuosité (Tableau 4- 18) qui sont des caractéristiques attendues des savons à base de graisse animale.



Photographie 4- 10 : Photographie de savon préparé à partir de la matière grasse issue du co-produit de jambon sec

	Savon élaboré à partir de matière grasse solide	Savon de Marseille	Savon élaboré à partir de suif
% eau/huile	28 %	28 %	28 %
Concentration en soude	32 %	34 %	34 %
Surgraissage	2 %	0 %	0 %
Indice d'iode	69	53	45
INS (Iodine Number Saponification)	130	145	147
Dureté	33	50	58
Pouvoir nettoyant	1	1	8
Pouvoir moussant	1	1	8
Onctuosité	32	49	50

Tableau 4- 18 : Caractéristique du savon fabriqué à partir de FMGD

Le faible pouvoir moussant et nettoyant de ce savon de FMGD, caractéristique connue des savons à base de graisse animale, pourra être aisément corrigé par un mélange de la FMGD avec une huile végétale riche en acide laurique C12 :0, comme l'huile de coprah ou de coco (44 à 51 % de C12 :0) ou l'huile de palmiste (47 à 52 % de C12 :0). Enfin la légère odeur de saindoux, qui pourrait pénaliser les applications dans le domaine des savons de toilette pourra être corrigée par une opération de désodorisation de la FMGD (entraînement à la vapeur d'eau, distillation sous vide) et par l'incorporation d'additifs aromatisants.

4.4. Caractérisation de la fraction granulat protéo-minéral (GPM)

La fraction granulat protéo-minéral est obtenue par filtration à chaud du milieu d'extraction aqueuse du co-produit de jambon sec concassé. Après séchage, ce raffinat solide à 94 % de matière sèche se présente sous forme de granulat, relativement hétérogène et de couleur brune, dont la taille n'excède pas 3 cm (Photographie 4- 4).

Il contient 43 % de protéines, 41 % de matière minérale, et 16 % de lipides résiduels par rapport à la matière sèche.

4.4.1. Caractérisation physico-chimique de la GPM

4.4.1.1. Caractérisation des minéraux du GPM

Les minéraux du co-produit de jambon sec concassé sont peu extraits lors du fractionnement aqueux, et moins de 2 % de matière minérale sont entraînés avec la fraction protéines solubilisées (FPS). Ce sont essentiellement le sodium, sous sa forme NaCl, et le potassium qui sont extraits, comme le confirme la nette diminution de leur teneur dans le GPM (Tableau 4- 19) par comparaison à celles dans le co-produit de jambon sec (tableau 2- 11).

	Ca	P	Na	K	Mg	Zn	Fe
	<i>g/kg</i>	<i>g/kg</i>	<i>g/kg</i>	<i>g/kg</i>	<i>g/kg</i>	<i>g/kg</i>	<i>g/kg</i>
Matière minérale du GPM	156,8	79,6	7,3	1,0	3,3	152,5.10 ⁻³	123,8.10 ⁻³
Co-produit de jambon concassé	120,5	63,4	18,8	4,5	2,5	121,0.10 ⁻³	93,8.10 ⁻³
Différence	+36,3	+16,2	-11,5	-3,5	+0,8	+26	+30
%	+30	+25,5	-61	-78	+32	+26	+32

Tableau 4- 19 : Composition en minéraux de la matière minérale du GPM et comparaison à celle du co-produit de jambon sec concassé

Tous les autres minéraux (Ca, P, Mg, Fe et Zn) voient leur teneur augmenter de 25 à 32 % dans le GPM, et le rapport massique en calcium (66,3 %) et phosphore (33,7 %) reste très proche de celui du phosphate de calcium et des valeurs données pour les hydroxyapatites d'os.

4.4.1.2. Caractérisation des lipides du GPM

Les lipides résiduels dans le granulats protéo-minéral (16 % de la matière sèche) représentent près de 30 % des lipides contenus dans le co-produit de jambon sec. L'analyse de leur composition en acides gras (Tableau 4- 20) révèle une répartition très proche de celle de la FMGD (Tableau 4- 14). Mais la répartition en acides gras libres (12 %), diglycérides (2,6 %) et triglycérides (82 %), qui représentent 95,6 % des lipides présents, est différente de celle dans le co-produit de jambon et dans la FMGD (Tableau 4- 21).

Tous les acides gras libres ne sont pas extraits, et leur proportion augmente probablement aussi du fait de l'hydrolyse de glycérides à 90 °C. Par contre la pureté en triglycéride dans la fraction lipidique du GPM augmente significativement, ce qui indiquerait que les composés non glycéridiques non dosés sont extraits lors du fractionnement aqueux, et se retrouvent majoritairement dans la FMGD.

Les caractéristiques physicochimiques de la fraction lipidique du GPM (Tableau 4- 22) sont en accord avec la composition glycéridique et la répartition des acides gras, avec un indice d'acide voisin de celui pour la matière première, plus élevée que pour la FMGD, un indice d'iode plus élevé que dans ces deux matières, et le plus faible indice totox indique que les produits de dégradation oxydative ont été majoritairement extraits.

Ecriture simplifiée	Nom commun	GPM
C10 :0	ac. caprique	0,9 ± 0,2
C14:0	ac. myristique	1,4 ± 0,0
C16:0	ac. palmitique	27,4 ± 0,1
C18:0	ac. stéarique	15,0 ± 0,1
Total saturés		44,7 ± 0,4
C16:1	ac. palmitoléique	2,5 ± 0,0
C18:1	ac. oléique	44,7 ± 0,2
Total monoinsaturés		47,2 ± 0,2
C18:2 (ω6)	ac. linoléique	6,7 ± 0,1
C18:3 (ω3)	ac. g linoléique	1,4 ± 0,0
Total poly-insaturés		8,1 ± 0,1
Polyinsaturés/total		0,08
TOTAL		95,6

Tableau 4- 20 : Composition en acides gras des constituants lipidiques du GPM (g/100 g d'acides gras totaux)

Composé	Nature	Composition glycéridique (g/100 g de corps gras)			
		GPM	GPM	FMGD	Co-produit de jambon
Acide palmitique (C16)	Acides gras libres	3,6 ± 0,1	12,1	6,7	10,6
Acide stéarique (C18)		8,5 ± 0,2			
diC16 diC18	Diglycérides	1,6 ± 0,1 1,0 ± 0,2	2,6	4,2	3,5
T46	Triglycérides	0,7 ± 0,1	81,9	74,9	70,1
T48		2,0 ± 0,1			
T49		0,2 ± 0,0			
T50		13,9 ± 0,3			
T51		0,9 ± 0,0			
T52		51,2 ± 0,8			
T53		0,9 ± 0,0			
T54		12,1 ± 0,3			
Total		97 %	97 %	86 %	84 %

Tableau 4- 21 : Analyse glycéridique de la fraction lipidique du GPM

Indice	GPM	Matière première
Indice d'acide	31,1 ± 0,6 mg KOH/g	30,7 ± 0,5 mg KOH/g
Indice d'iode	69,8 ± 2,7 g/100 g	53,7 ± 0,3 g/100 g
Indice de P-anisidine	32,3 ± 0,3	22,7 ± 0,6
Indice de peroxyde	7,0 ± 0,1 meq d'oxygène actif/kg	98,9 ± 2,5 meq d'oxygène actif/kg
Indice de saponification	212,4 ± 1,7 mg KOH/g	203,4 ± 1,3 mg KOH/g
Indice totox	46,2	160,3

Tableau 4- 22 : Caractéristiques physico-chimiques de la fraction lipidique de GPM

4.4.1.3. Caractérisation des protéines du GPM

La répartition des acides aminés totaux dans le GPM (Figure 4- 18) est très proche de celle dans le co-produit de jambon. Par contre elle est différente dans le cas des acides aminés libres (Figure 4- 19) présents en nettement plus faible proportion par rapport aux acides aminés totaux dans le GPM (Tableau 4- 23). La majeure partie de ces acides aminés libres sont extraits, dans la phase aqueuse et se retrouvent bien dans l'extrait FPS lyophilisé (Figure 4- 3, Tableau 4- 5). Les écarts de répartition par rapport aux acides aminés totaux dosés entre le collagène et la fraction protéique du GPM (Tableau 4- 24), parfois supérieurs à ceux observés pour le co-produit de jambon (Tableau 2- 4) indiquent d'une part l'extraction

partielle de collagène lors du fractionnement aqueux, mais aussi la présence d'autres protéines non extractibles à l'eau chaude. L'extraction du GPM par un tampon phosphate et en présence de chlorure de sodium ne conduit qu'à moins de 12 % de protéines solubles (Tableau 4- 25), valeur légèrement supérieure à celle obtenue à partir du co-produit de jambon sec (Tableau 2- 5). L'analyse de la répartition des acides aminés dans ces différentes fractions correspondantes aux fractions LIS, HIS et IN selon le protocole décrit par Nuckles (Figure 4- 20) tend à confirmer la nature collagénique de la fraction insoluble (IN) et la présence de protéines sarcoplasmiques ou myofibrillaires résiduelles dans les fractions solubles, les acides aminés libres étant essentiellement retrouvés dans la fraction soluble LIS (Figure 4- 21).

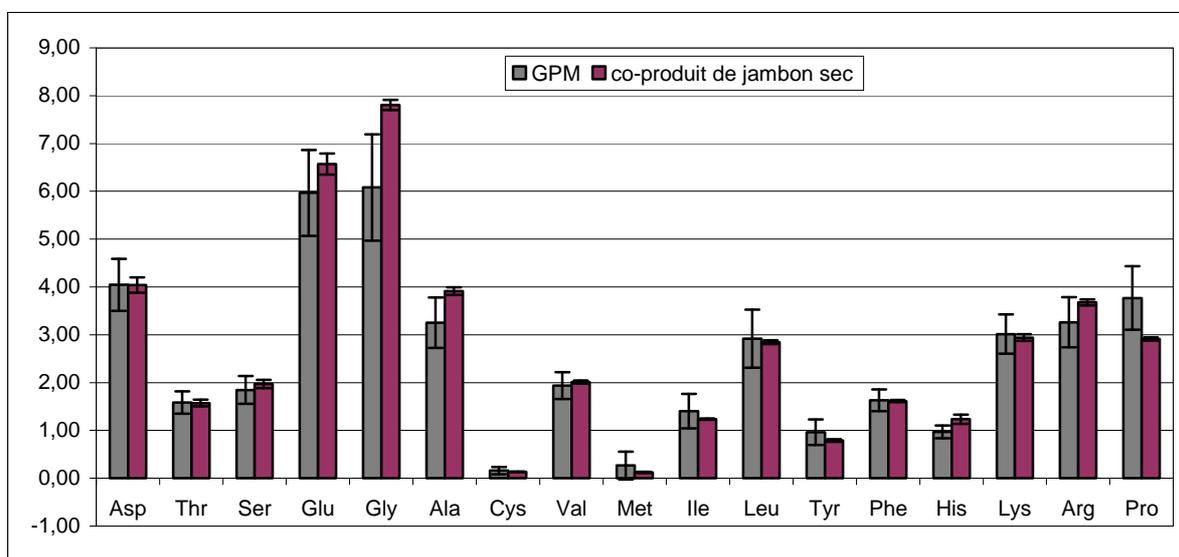


Figure 4- 18 : Répartition des acides aminés totaux dans la fraction GPM (g/100 g)

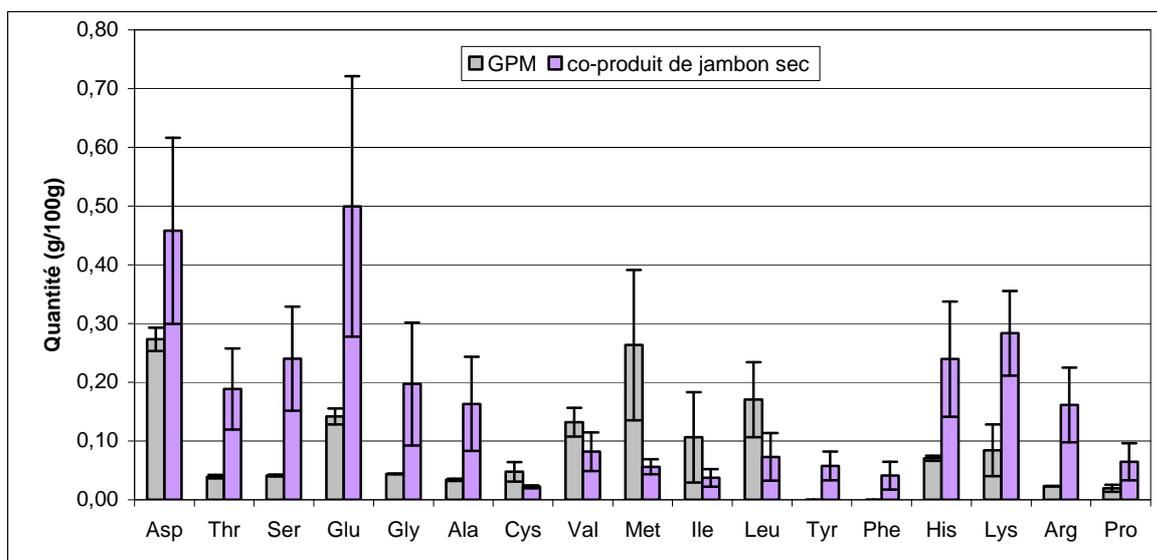


Figure 4- 19 : Répartition des acides aminés libres dans la fraction GPM (g/100 g)

Acide aminé	GPM
Asp	7
Thr	2
Ser	2
Glu	2
Gly	1
Ala	1
Cys	30
Val	7
Met	99
Ile	8
Leu	6
Tyr	nd
Phe	nd
His	7
Lys	3
Arg	1
Pro	1

Tableau 4- 23 : Proportion d'acides aminés libres dans la fraction GPM

Acide aminé	Collagène*	GPM	Ecart GPM et collagène
Asp	6,4	8,3	1,9
Thr	2,0	3,6	1,6
Ser	3,5	4,8	1,3
Glu	10,6	11,1	0,5
Gly	28,8	22,1	-6,7
Ala	12,1	10,0	-2,1
Cys	-	0,4	-
Val	2,7	4,6	1,9
Met	0,7	0,5	-0,2
Ile	1,5	2,9	1,4
Leu	3,3	6,1	2,8
Tyr	0,4	1,4	1,0
Phe	2,0	2,7	0,7
His	-	1,7	-
Lys	3,7	5,7	2,0
Arg	8,5	5,1	-3,4
Pro	13,8	8,9	-4,9

* collagène de mammifère (Li et al., 2009)

Tableau 4- 24 : Répartition massique des acides aminés du GPM par rapport aux acides aminés totaux du collagène (% du total des acides aminés)

Conditions opératoires	Protéines solubilisées* (%)
FPS 20 % dans le tampon phosphate de sodium 0,05 M, NaCl 0,2 M à pH 7,4, 3 h à 4 °C (2 fois)	5,5 ± 0
Culot de centrifugation à 20 % dans le tampon phosphate de sodium 0,05 M +NaCl 0,6 M 3h à 4 °C (2 fois)	6 ± 0

* Dosage des protéines dans le surnageant après centrifugation 20 000 g 15 min. à +4 °C

Tableau 4- 25 : Solubilité des protéines du GPM

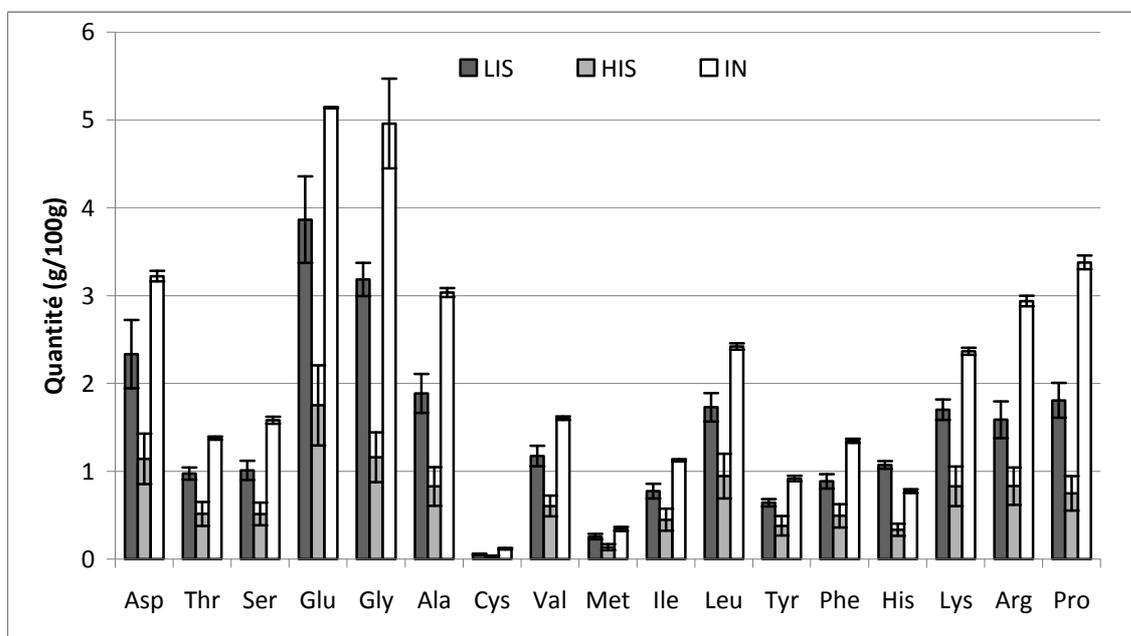


Figure 4- 20 : Composition en acides aminés totaux (g/100 g) des fractions protéiques du GPM

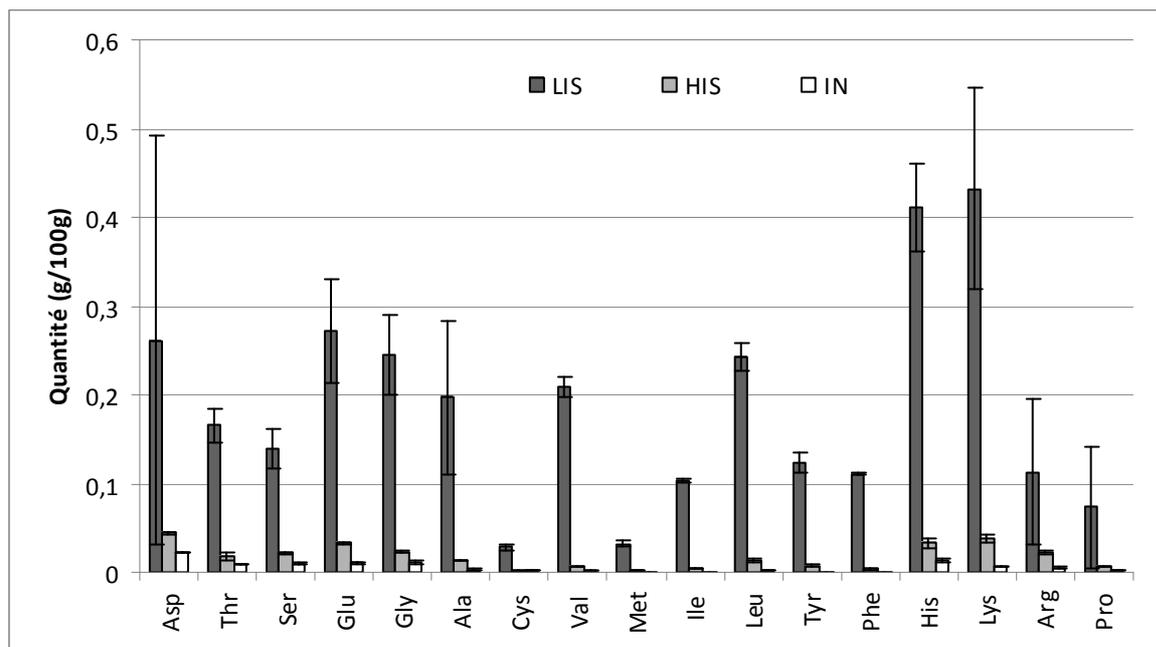


Figure 4- 21 : Composition en acides aminés libres (g/100 g) des fractions protéiques du GPM

4.4.2. Propriétés fonctionnelles et perspectives d'application du GPM

Par comparaison avec le co-produit de jambon sec, le GPM est une fraction stabilisée sous forme de granulat, enrichie en protéines (43 %) de nature essentiellement collagénique, et en matière minérale (41 %), majoritairement constituée par du phosphate de calcium, et qui ne contient plus que 16 % de lipides. Il constitue donc une matière première plus intéressante que l'os frais, qui pourra entrer comme ingrédient de fabrication dans les mêmes domaines (aliments pour animaux de compagnie, fertilisants et engrais, etc.) (§ 1.1.5). Mais le GPM pourrait aussi constituer une matière première intéressante pour la production de gélatine et de colle d'os.

4.4.2.1. Fractionnement du GPM pour l'obtention de gélatine et de colle d'os.

L'extraction des protéines du GPM selon le protocole de fabrication de la gélatine (partie expérimentale, § 5.3.2) nous a permis d'obtenir une gélatine sous forme de poudre blanche (Photographie 4- 11) avec un rendement de 16 % par rapport au GPM et une pureté en polypeptides protéique de 91 %.



Photographie 4- 11 : Gélatine d'os obtenue à partir du GPM

Les propriétés gélifiantes de cette gélatine ont été confirmées (Figure 4- 22). La rigidité des gels à 10 % dans l'eau à 80 °C ($G' = 3028 \text{ N/m}^2$, $G'' = 1463 \text{ N/m}^2$, $G''/G' = 0,48$), bien que plus faible que celles observées pour les gels obtenus à partir de la fraction FPS (Tableau 4- 10), reste néanmoins suffisamment élevée pour des applications traditionnelles de la gélatine. Les valeurs relevées dans la littérature pour la gélatine d'os obtenue par traitement acide ou la gélatine de peau de porc, indiquent une rigidité comprise entre 5800 et 7000 N/m^2 (gels à 6,67 % dans l'eau à 60 °C) (Boran et al., 2010).

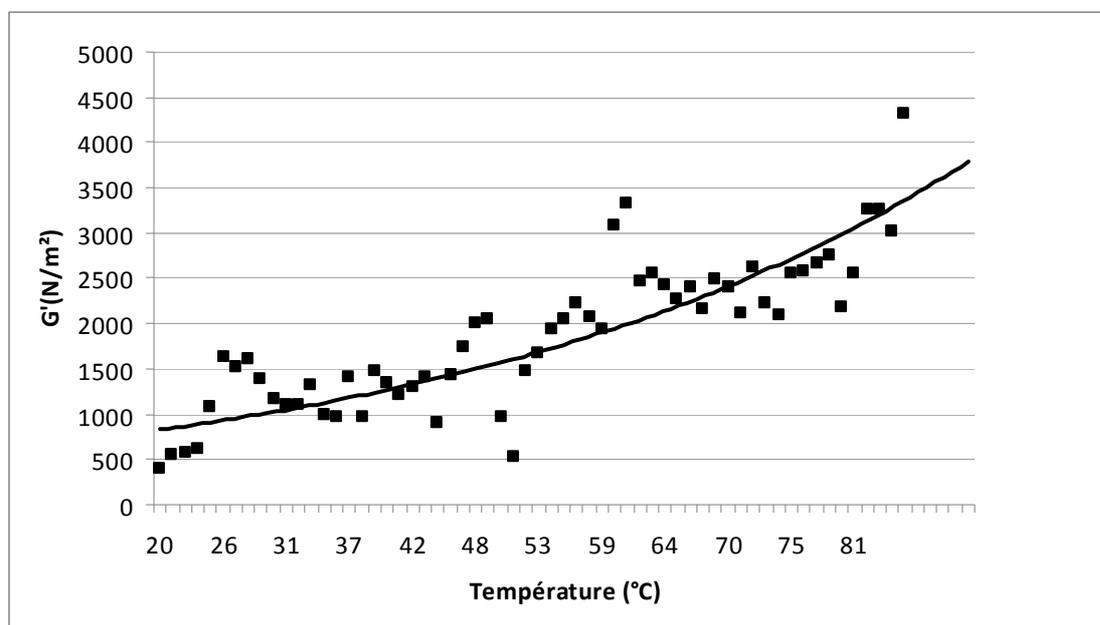


Figure 4- 22 : Rigidité élastique G' de la gélatine extraite de GPM en fonction de la température

De façon analogue, l'extraction alcaline des protéines de GPM selon le protocole de fabrication de la colle d'os (Malepeyre. F et al., 2010) (protocole expérimental, § 5.3.1)

conduit à un extrait (Tableau 4- 12) dont les propriétés adhésives sont fonction du pH de la solution extractante (Tableau 4- 26).



Photographie 4- 12 : Colle d'os obtenue à partir d'un extrait à pH alcalin du GPM

pH de la solution extractante	Rendement en extrait (%)	Composition protéique de la colle séchée (% MS)	Force réelle de rupture
10	4,18	89	857 ± 236 N
12	3,97	69	1457 ± 466 N
13,5	2,75	62	343 ± 305 N

Conditions d'extraction : t=65 min. , T=60 °C, L/S=7

Conditions de collage : stockage 3 semaines à 25 °C et 60 % d'humidité relative sur des éprouvettes normées (partie expérimentale § 5.2.6.1)

Concentration de la solution : 20 %MS protéique

Grammage d'induction : 85,7 g/m²

Tableau 4- 26 : Extraction de colle du GPM et efficacité adhésive de l'extrait

Ainsi pour l'extrait protéique obtenu à pH 12, les forces à rupture d'un assemblage bois-bois sont nettement supérieures à celles obtenues avec la fraction FPS et se rapprochent de celles d'une colle commerciale.

Cependant ces deux voies de valorisation imposent une étape supplémentaire de fractionnement qui, au-delà de l'avantage apporté par la concentration élevée en protéines du GPM, nécessitera une étude complémentaire pour la valorisation des co-produits (lipides et fraction minérale). Une voie plus originale de valorisation directe du GPM serait alors d'exploiter les propriétés des protéines collagéniques qu'il contient pour une transformation directe en matériau.

4.4.2.2. Transformation du GPM en matériau

L'étude des caractéristiques thermiques du GPM par analyse enthalpique différentielle (Figure 4- 23) met en évidence les mêmes phénomènes de transition à +5 °C et 40 °C que

ceux observés dans le cas de la fraction FPS, attribués à la présence des lipides, en plus forte proportion dans le GPM. Par contre, si la transition à 60 °C observée pour les protéines solubilisées extraite a disparu, une nouvelle transition secondaire nettement marquée à la première montée en température apparaît (150 °C). De même, l'analyse mécanique dynamique du GPM fait apparaître un phénomène de transition thermique à 60 °C (Figure 4-24).

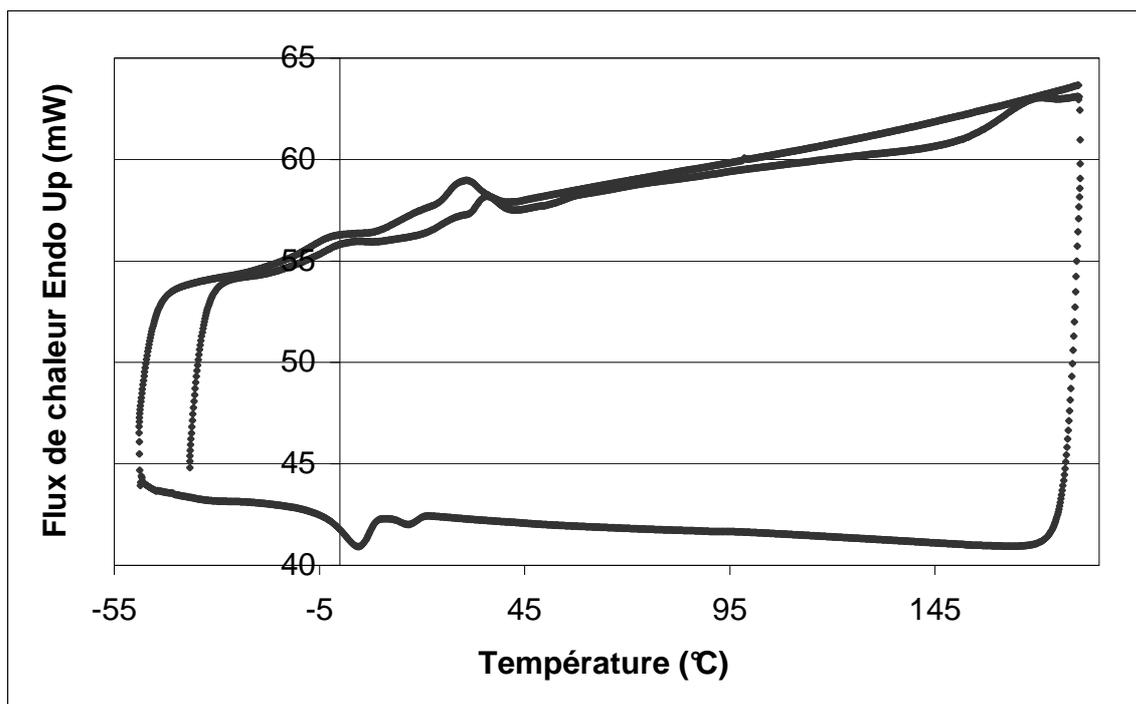


Figure 4- 23 : Comportement du GPM mesuré à l'aide d'un appareil de calorimétrie différentielle à balayage (DSC)

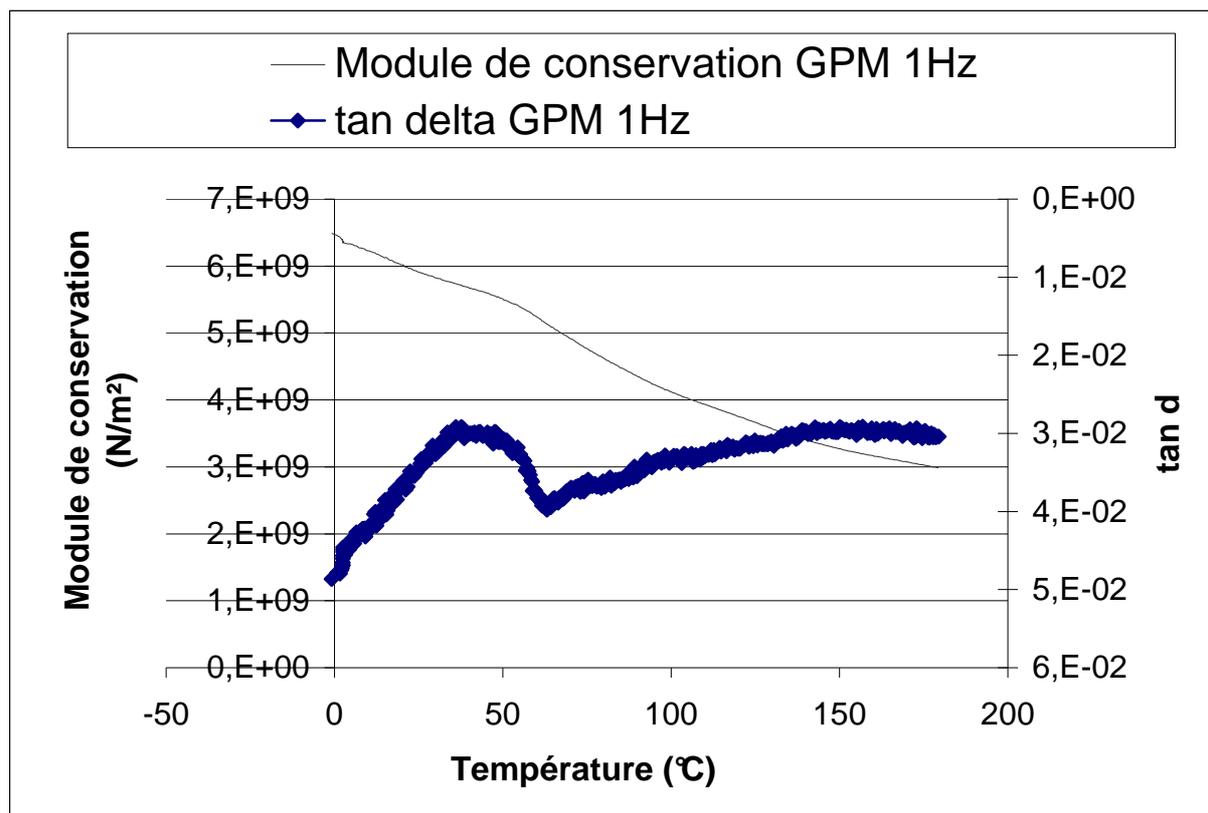


Figure 4- 24 : Spectres de l'analyse mécanique (AMD) du GPM

Ces transitions peuvent être attribuées aux protéines du GPM, se traduisant par une augmentation du caractère visqueux du comportement visco-élastique du solide sous l'effet de la température. Les mesures d'écoulement en phase fondue sous contrainte thermomécanique n'ont pu être réalisées dans le dispositif rhéomètre Haake MiniLab (partie expérimentale § 5.2.3) du fait de la charge en matière minérale et de la granulométrie du GPM. Par contre, les essais de thermopressage en plaque épaisse (15x15x0,4 cm) du GPM (P=260 bars, t= 1 min, T=150 °C) conduisent effectivement à un matériau densifié (d= 1,06) et cohérent (Photographie 4- 13). Mais ce matériau reste très hétérogène du fait de la taille des particules d'os et donc trop fragile.

L'amélioration des propriétés mécaniques de plaques thermopressées à différentes températures (partie expérimentale § 5.2.7) a cependant pu être obtenue à partir de GPM broyé (Tableau 4- 27).

Ainsi, la réduction de la taille des particules du GPM permet effectivement une forte densification du matériau thermopressé, qui se traduit par des valeurs nettement plus élevées. A 200 °C, l'effet d'une augmentation de la pression de vapeur d'eau dans le moule, lié à la forte teneur en eau du GPM (28 % d'eau), se traduit par un dégazage de la presse, responsable

d'une diminution de la densité et de la résistance. Une température de thermopressage de 160 °C, supérieure à la température de transition vitreuse des protéines pour de tels taux d'hydratation, s'avère suffisante pour assurer une bonne cohésion du matériau. Cependant, les valeurs élevées des écarts types observées pour la résistance à rupture et le module témoignent d'une trop grande hétérogénéité du matériau, les ruptures étant toujours observées à proximité de particules osseuses. Ce point devra donc encore être étudié à travers une diminution de la granulométrie du GPM et le resserrement des coupes granulométriques. Néanmoins, ces premiers résultats confirment bien le rôle liant des protéines résiduelles du GPM et leur aptitude à former une matrice thermoplastifiée et durcie. A titre comparatif, les valeurs de résistance à rupture à 160 °C (3,66 MPa) et de module (414 MPa) sont inférieures à celles observées sur des panneaux de fibres réalisés à partir de tourteaux de tournesol plante entière ou extrudés, mais comparables avec des panneaux de fibres obtenus à partir de panneaux de pailles traités par extrusion (résistance à rupture de 3 à 22 MPa et module de 500 à 3600 MPa) (Tableau 4- 28).



Photographie 4- 13 : Plaque épaisse obtenue par thermopressage du GPM (P=260 bars, t= 1 min, T=150 °C, granulométrie comprise entre 2,5 et 5 mm)

Granulo- métrie (mm)	Température du moule (°C)	Epaisseur des plaques (cm)	Densité (g.cm ⁻³)	Résistance (MPa)	Module (MPa)
2,5 à 5	150	0,43	1,06	0,90 ± 0,74	97 ± 84
	200	0,50	0,92	0,54 ± 0,09	53 ± 10
0,1 à 2,5	160	0,33	1,38	3,66 ± 0,09	414 ± 127
	200	0,36	1,28	1,74 ± 1,03	176 ± 84

Composition du GPM, MS= 62 %, MM= 37 % MS, L=22 % MS, P=40 % MS.

Conditions de thermopressage : pression 260 bars, durée= 1 min.

Tableau 4- 27 : Résistance mécanique de plaques thermopressées obtenues à partir d'un GPM broyé issu du fractionnement aqueux sous forte contrainte mécanique.

Origine des panneaux de fibres	Conditions de thermopressage	Résistance (MPa)	Module (GPa)	Référence
Tourteau de tournesol extrudé	100 bars, durée 10 min, 160 °C 80x10x4 mm d = 1,29 g.cm ⁻³	28,30 ± 1,45	2430 ± 196	(Geneau, 2006)
Tourteau de tournesol plante entière, moule fermé	115 bars, 1 min, 175 °C d = 1,14 g.cm ⁻³	6 à 15	1000 à 2400	(Evon, 2008)
Panneau de pailles traitées par extrusion, moule ouvert	110 bars, 10 min, 180 °C 15x5x3-5 mm d = 0,94 g.cm ⁻³	3 à 22	500 à 3600	(Maréchal, 2001)

Tableau 4- 28 : Caractéristiques d'éprouvettes thermopressées issues de panneaux de fibres végétales

4.5. Conclusions et perspectives pour le procédé de fractionnement aqueux de co-produit de jambon sec

Le fractionnement aqueux du co-produit de jambon sec permet donc, dans des conditions modérées de température (<100 °C) avec des ratio liquides solides limités (≤ 4) et pour des temps de contacts faibles (<30 min) en simple contacteur agité d'obtenir trois fractions facilement séparables dont la composition et les propriétés offrent de nombreuses possibilités d'applications. En fonction de l'intérêt commercial de ces fractions, les conditions du fractionnement aqueux pourront être orientées vers l'optimisation des rendements de l'une ou l'autre des fractions (chapitre 3). Ainsi une diminution de la température permet d'augmenter la proportion de protéines solubilisées, sous contrainte d'une plus forte dilution du milieu de fractionnement et de temps de contact plus élevés. Ce constat, qui traduit typiquement le phénomène de limitation diffusionnel lors de l'extraction des protéines, nous a conduit à tester le fractionnement aqueux des co-produits de jambon sec sous contrainte thermomécanique en extrudeuse bi-vis.

4.5.1. Fractionnement aqueux des co-produits de jambon sec en extrudeuse bi-vis

Le fractionnement aqueux du co-produit de jambon sec sous contrainte thermomécanique est mené dans une extrudeuse bi-vis de type Cleextral BC45 (partie expérimentale § 5.3.7) équipé d'un module de filtration pour séparer la phase aqueuse et les matières grasses entraînées, et d'une filière possédant une sortie unique de 14 mm de diamètre pour extruder le raffinat en jonc (Figure 4- 25).

Zone	Alimentation		Convoyage/triturage								Filtration		Pressage		
N° module	1		2		3		4		5		6		7		
Température	25 °C		25 °C		40 °C		40 °C		40 °C		25 °C		40 °C		
Type de vis	T2F	C2F	C2F	C2F	C2F	C2F	C1F	C1F	C1F	C1F	C1F	C1F	C1F	C1F	C1F
Pas de vis (mm)	66	50	33	33	25	25	33	33	33	33	25	25	-25	-25	25

Figure 4- 25 : Configuration et profil de vis de l'extrudeuse bi-vis mis en œuvre pour le fractionnement aqueux des co-produits de jambon sec

La configuration et le profil de vis choisis sont adaptés à partir des travaux réalisés antérieurement sur le fractionnement aqueux de la graine de tournesol (Evon, 2008) et d'essais préliminaires de mise au point. Ainsi configurée, l'extrudeuse bi-vis cumule les fonctions de broyeur, de contacteur liquide/solide, de séparateur liquide/solide et d'extrudeuse en filière jonc (Figure 4- 26).

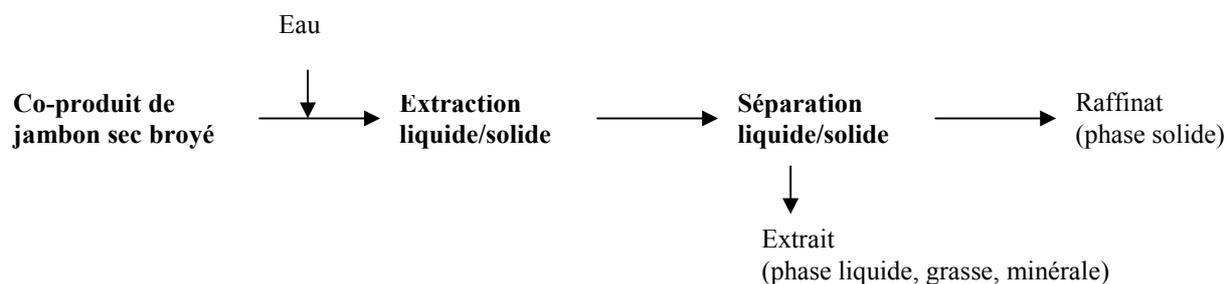


Figure 4- 26 : Schéma simplifié du fractionnement des co-produits de jambon sec par extraction aqueuse en extrudeuse bi-vis.

La température de consigne des fourreaux thermorégulés de l'extrudeuse a été choisie à 40 °C pour limiter la température d'auto échauffement par friction des matières minérales dans le système fourreau-vis. Le ratio liquide/solide est fixé à 6,3, et le débit de co-produit de

jambon sec concassé est de 30,7 kg/h pour une vitesse de rotation des vis de 200 tr/min. Dans ces conditions, un filtrat liquide chargé et un extrudat sous forme de jonc relativement régulier sont obtenus (Photographie 4- 14) (Tableau 4- 29).



a) Filtrat



b) Extrudat

Photographie 4- 14 : Filtrat et extrudat du fractionnement aqueux en extrudeuse bi-vis des co-produits de jambon sec concassés.

Vitesse de rotation des vis	200 rpm
Débit de co-produit jambon sec concassé	30,7 kg/h (à 77 % de MS)
Débit d'eau injecté (hors apport du co-produit)	119,2 kg/h
Ratio liquide/solide	6,3
Débit de filtrat	130,2 kg/h
Débit d'extrudat	19,7 kg/h
Intensité courant moteur	10-13 A

Tableau 4- 29 : Conditions opératoires et résultats du fractionnement aqueux du co-produit de jambon sec concassé en extrudeuse bi-vis.

Le filtrat, qui se décante à froid (+4 °C) sur une durée de 24 heures en trois phases, supérieure grasse, intermédiaire et inférieure chargée et opaque, représente 86,6 % des entrées dans l'extrudeuse (solide+eau) et contient 48,5 % de la matière sèche du co-produit de jambon sec introduit. L'analyse de la composition des trois phases (Tableau 4- 30) montre que 21 % de la matière minérale ont été entraînés au filtrat, essentiellement sous forme de fines particules solides. Elles perturbent la décantation à froid du filtrat, et la phase inférieure à 36 % de matière sèche dont 23 % de matière minérale contient encore 49 % de lipides et

25 % de protéines non séparées. Ce qui explique pour partie les plus faibles rendements en lipides extraits sous forme de matière grasse décantée dans la phase supérieure (27,5 % des lipides introduits) et en protéines solubilisées dans la phase aqueuse intermédiaire (5,5 % des protéines introduites). Cependant, au total des phases du filtrat, près de 65 % des lipides et 27,5 % des protéines du co-produit de jambon ont été entraînées. La décantation du filtrat obtenu par fractionnement aqueux en extrudeuse bi-vis devra faire l'objet d'une étude complémentaire.

	Composition				Débit théorique (kg/h)				Rendement d'extraction			
	MS %	MM (% MS)	L	P	MS	MM	L	P	MS % MSi	MM	L	P
Phase supérieure grasse	27	1	57	7	3,6	0,03	2,0	0,3	15,5	0,6	27,5	3,5
Phase intermédiaire	2	1	-	20	2,1	0,01	-	0,4	9	0,2	0	5,5
Phase inférieure	36	23	49	25	5,7	1,3	2,8	1,4	24	21	37	18,5
Total des filtrats									48,5	21,5	64,5	27,5

Tableau 4- 30 : Composition des trois phases du filtrat et rendement d'extraction du fractionnement du co-produit de jambon sec en extrudeuse bi-vis

L'extrudat, qui est effectivement mis en forme de jonc et pourra subir une opération de découpe-granulation, représente 51,5 % de la matière sèche de co-produit de jambon sec introduit. Sa composition est proche de celle du GPM obtenu lors du fractionnement pilote en contacteur agité (Tableau 4- 31).

	Matière sèche (%)	Composition		
		Lipides (%MS)	Protéines (%MS)	Minéraux (%MS)
Extrudat	62	22	40	37

Tableau 4- 31 : Composition de l'extrudat obtenu par fractionnement aqueux du co-produit de jambon sec concassé en extrudeuse bi-vis.

Ce résultat montre donc qu'après fractionnement aqueux, le granulat protéo-minéral peut effectivement être mis en forme de matériau sous contrainte thermomécanique et qu'il s'écoule à travers une filière grâce aux propriétés liantes des protéines en milieu fortement hydraté. Les essais d'extrusion du GPM issu du fractionnement aqueux en contacteur agité ont confirmé leur aptitude au formage d'un jonc à travers la filière à faible température.

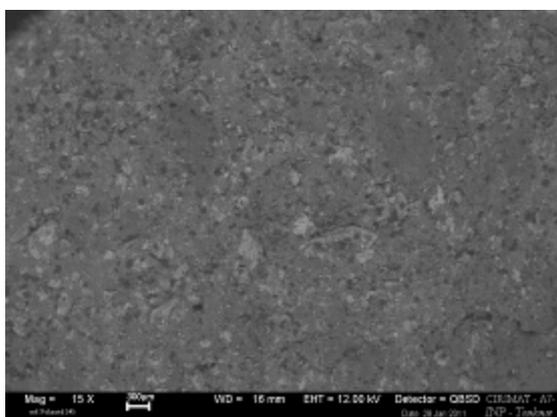
Ainsi, la mise en œuvre de l'extrudeuse bi-vis comme extracteur-séparateur liquide/solide permet d'obtenir en continu une excellente efficacité du fractionnement aqueux du co-produit de jambon sec, pour des températures limitées à 40 °C et des temps de contact de l'ordre de 1 min, avec des rendements d'extraction des lipides et des protéines équivalents à ceux obtenus en contacteur agité. De plus, elle permet la mise en forme du GPM en pellets, ce qui constitue un avantage pour sa transformation ultérieure et sa valorisation. Cependant, et comme on pouvait le craindre à la suite des essais d'extraction sur le co-produit de jambon finement broyé, c'est l'étape de séparation des extraits qui devient limitante, d'une part du fait de l'entraînement de fines particules minérales lors de la filtration à chaud, et d'autre part par limitation de l'efficacité de décantation des matières grasses. Ce dernier point pourra être amélioré par centrifugation de la phase aqueuse chargée en minéraux.

4.5.2. Conclusion

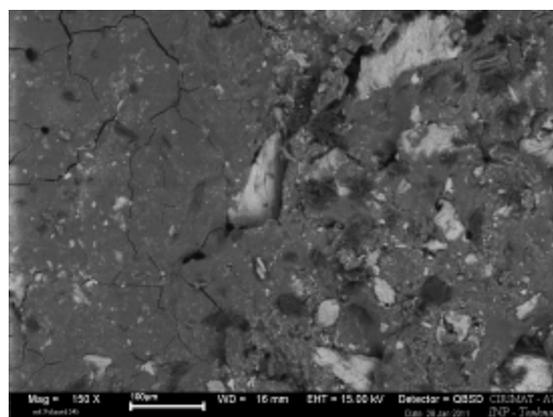
Le fractionnement aqueux des co-produits de jambon sec concassé en un seul étage d'extraction dans un contacteur agité pilote avec un ratio eau/co-produit de 3,25, à 90 °C pendant 30 minutes permet d'obtenir, conformément aux prévisions tirées de l'étude de l'influence de ces trois facteurs (chapitre 3) :

a) un granulat protéo-minéral par filtration à chaud en milieu d'extraction avec un rendement proche de 60 % par rapport à la matière sèche du co-produit. Il ne contient plus que 16 % de lipides résiduels, représentant moins de 30 % des lipides du co-produit. L'extraction de ces lipides résiduels pourra être obtenue par un second étage d'extraction aqueuse mais les conditions opératoires devront être adaptées pour assurer leur libération et leur entraînement de la matrice protéique insoluble à laquelle ils sont associés. Cette dernière, qui représente 43 % de la matière sèche du granulat, soit près de 80 % des protéines du co-produit, est essentiellement de nature collagénique et est associée à 41 % de matière minérale par rapport à la matière sèche du granulat, essentiellement constituée d'hydroxyapatite d'os. Séché à 94 % de matière sèche, il peut être granulé en forme de pellets pour devenir une base d'ingrédients stable, et donc stockable, pour la production de Protéines Animales Transformées pour l'alimentation animale et le pet-food, voire de farine animale, ou une base d'engrais et de fertilisants. Il devient aussi une matière première de choix pour la fabrication de gélatine et de colle d'os, dont les propriétés pourront être exploitées dans le nouveau domaine des biopolymères thermoplastiques ou thermodurcissables pour l'élaboration de

matériaux biodégradables. Les résultats obtenus par thermopressage en plaque du granulats protéo-minéral ouvrent aussi de nouvelles perspectives pour leur transformation directe en matériau composite formé d'une matrice protéique chargée en minéraux (Photographie 4-15).



a) GPM thermopressé, grossissement 15



b) GPM thermopressé, grossissement 100

Photographie 4- 15 : Plaque thermopressée du GPM à 160 °C pendant 1 minute à 260 bars, grossissement 15 et 100

b) Une fraction matière grasse par décantation à froid du filtrat de séparation à chaud, avec un rendement de 20 % par rapport au co-produit de jambon sec et 24 % par rapport à la matière sèche. Elle ne contient que 10 % d'eau et pratiquement pas de protéines et de matière minérale, et représente plus de 70 % des lipides du co-produit. Sa composition glycéridique et en acides gras ainsi que ses caractéristiques physico-chimiques la rapprochent d'un saindoux de qualité (faible indice d'acidité), lui ouvrant les mêmes domaines d'application (agroalimentaire, énergie et chimie). Et, si ses caractéristiques aromatiques présentent quelques inconvénients pour certaines applications qui nécessiteraient une étape de désodorisation comme par exemple pour la fabrication de savon, elles pourraient aussi constituer un atout pour la préparation de produits charcutiers pour lesquels l'arôme jambon séché serait recherché ou devrait être renforcé.

c) Une fraction protéines solubilisées qui peut être concentrée de la phase aqueuse de décantation des matières grasses du filtrat, par évaporation sous vide jusqu'à des teneurs en matière sèche de 38 % (concentrat protéique à 52 % de MS), séchée en film mince (10 à 15 % de MS) ou lyophilisées (93 % de MS). Elle contient très peu de lipides (3 % de matière sèche), près de 30 % de minéraux, essentiellement constitués par du chlorure de sodium, et 52 % de protéines par rapport à la matière sèche, qui représentent 12 % des protéines du co-produit de jambon, et sont constituées par un mélange de protéines solubles d'origine

musculaires (60 %) et de collagène solubilisé (40 %), avec une forte proportion d'acides aminés libres (29 % du total des acides aminés). Solubles à plus de 90 % à pH 6-7, et quasiment insolubles à pH 2, ce qui permet d'envisager leur récupération directe par coagulation à partir du filtrat aqueux et un recyclage de la phase aqueuse pour le fractionnement aqueux, cette fraction protéique pourrait aussi être purifiée par déminéralisation (élimination du chlorure de sodium). Sa composition originale en acides aminés, associée à la teneur élevée en GAG sulfatés et à ses propriétés physicochimiques remarquables (propriétés épaississantes, gélifiantes, adhésives, émulsifiantes et thermoplastiques) font de cet extrait protéique une base très intéressante pour de nombreuses applications potentielles comme :

- gélifiant, liant et stabilisant dans des formulations alimentaires humaines (charcuterie d'assemblage de viande par exemple) ou du pet-food (apport en acides aminés libres et en GAG).

- peptones pour milieux de culture de levures et la production biotechnologique de champignons d'intérêt industriel

- stabilisant et actif pour la biocosmétique et la nutraceutique

- nouveaux films d'emballage alimentaire.

Conclusion générale

Comme pour l'ensemble des filières de production agro-alimentaire, l'industrie de la transformation des viandes génère une remarquable variété de produits, de la viande fraîche aux charcuteries, plats cuisinés et autres ingrédients culinaires, mais aussi de co-produits, inévitables pour chaque étape de transformation (peaux, abats et viscères, os et rognures, gras, etc.), qui ne trouvent plus leur place dans nos assiettes, et dont les applications traditionnelles comme celle des cuirs pour les peaux, des gélatines pour les os, ou les savons pour les graisses, ne sont pas aptes à les valoriser en totalité. Le principal débouché de ces co-produits reste la fabrication de protéines animales transformées (PAT) et de graisses pour l'alimentation animale, dont le marché a été fortement déstabilisé par l'interdiction des farines animales pour les animaux d'élevage suite à la crise dite de la vache folle. Ce qui s'est traduit pour une entreprise comme le groupe AOSTE, spécialisée dans la production charcutière de porc et en particulier de jambon sec, par un effondrement du prix de vente de ses co-produits dont la vente couvre uniquement les coûts d'enlèvement.

Au-delà de ce contexte de crise et de la dépendance que représente le débouché des co-produits sur un marché unique, la question posée est celle d'un développement durable de l'activité de production charcutière à travers une valorisation intégrée des co-produits par la production d'extraits biosourcés pour l'industrie alimentaire ou non-alimentaire. Les travaux que nous avons réalisés pour répondre à cette question se sont articulés en trois étapes :

- le choix d'un co-produit modèle et sa caractérisation,
- l'élaboration d'un procédé de fractionnement adapté au contexte industriel de la transformation charcutière et conduisant à des extraits et raffinats stabilisés, susceptibles d'apporter une valeur ajoutée au co-produit,
- la réalisation du procédé au stade pilote et la caractérisation des fractions obtenues pour en explorer les secteurs d'application.

a) Parmi les flux de co-produits générés par l'entreprise AOSTE, le co-produit de jambon issu de l'opération de désossage du jambon séché présente l'avantage d'être issu d'une sélection des matières premières (cuisse de porc) et d'être stabilisé vis-à-vis de son évolution ultérieure par le traitement de salage et de séchage. L'analyse de sa composition chimique révèle une composition équilibrée en lipides ($31 \pm 3 \%$), protéines ($33 \pm 5 \%$) et

minéraux (26 ± 4 %), par rapport à la matière sèche, qui représente 77 ± 3 % du co-produit. La fraction lipidique se caractérise par une répartition à 70 % en triglycérides, 3,5 % en diglycérides et 11 % en acides gras libres, avec une proportion en acides gras saturés/insaturés de 0,87 (24 % C16 :0, 13 % C18 :0, 38 % C18 :1), proche de celle obtenue pour les lipides de la moelle d'os. Les protéines sont majoritairement d'origine collagénique (89 %), mais l'analyse de leur solubilité et de leur composition en acides aminés fait apparaître une contribution des protéines d'origine sarcoplasmiques et myofibrillaires à cette fraction protéique. Elle se caractérise aussi par la présence d'une proportion relativement élevée d'acides aminés libres (6 %). La fraction minérale est essentiellement constituée par du phosphate de calcium (88 % de la matière minérale), correspondant aux hydroxyapatites d'os, et dans une moindre proportion de chlorure de sodium (9 % de la matière minérale) issu de l'opération de salage des jambons. Outre ces fractions majoritaires, deux autres fractions minoritaires ont pu être identifiées : les glycosaminoglycanes (GAG) sulfatés, à proportion de 15 % par rapport à la matière sèche, et les composés aromatiques volatils responsables de la saveur de jambon sec nettement perceptible dans le co-produit. Les caractérisations réalisées sur le co-produit de jambon cuit (désossage de cuisses fraîches) montrent que cette composition varie légèrement (matière sèche 69 ± 2 %, lipides 41 ± 3 %, protéines 30 ± 5 %, matières minérales 29 ± 3 %) essentiellement du fait des différences de découpe avec une proportion de matière résiduelle plus élevée. Le modèle co-produit de jambon sec pourra donc être raisonnablement extrapolé au co-produit frais dès lors que le procédé pourra être adapté à la mobilisation des différentes fractions pour leur extraction.

b) Le procédé de fractionnement aqueux que nous avons mis au point comporte 4 étapes principales d'extraction et de séparation, d'une mise en œuvre relativement simple, par des technologies maîtrisées en industries agroalimentaires, adaptées aux caractéristiques du co-produit de jambon sec, et qui mettent à profit les propriétés de ses constituants :

— le broyage est la première opération qui permet d'homogénéiser le co-produit, d'augmenter fortement sa masse volumique apparente et de favoriser l'accessibilité des constituants, particulièrement pour l'os. Le concassage au broyeur à marteaux en morceaux de taille inférieure à 8 cm et 96 % compris entre 3 et 80 mm, est une opération simple à mener, peu gourmande en énergie. Un broyage plus fin, qui pourrait améliorer l'accessibilité des matières grasses et protéines dans la structure poreuse des tissus osseux est pénalisé par le mottage des granulats,

— l'extraction liquide/solide par mise en contact sous agitation modérée du co-produit de jambon sec concassé et d'un volume d'eau est la principale étape du procédé, dont les principaux facteurs temps de contact (30 à 90 min) température (40 à 90 °C) et ratio eau/co-produit (4 à 10) ont été étudiés grâce à la réalisation d'un plan d'expériences. Ainsi de 26 à 55 % de la matière sèche du co-produit concassé peuvent être extraits ou entraînés par l'eau, essentiellement sous forme de lipides et de protéines.

— la filtration du milieu d'extraction à chaud permet de séparer un granulat, enrichi en matière minérale (39 à 56 %), et en protéines insolubles (11 à 55 %), et appauvri en lipides (9 à 31 %).

— la décantation du filtrat à froid permet de séparer tout ou partie des lipides sous forme de matière grasse solide. Les conditions opératoires de l'extraction, et en particulier leur effet sur la solubilisation et la coagulation des protéines, interfèrent avec la décantation des matières grasses et leur pureté en lipides. Dans les meilleures conditions (temps de contact 30 min, température 90 °C, ratio liquide/solide 4), un rendement de 33 % en matières grasses séparées, à 64 % d'humidité et 86 % de pureté en lipides est atteint,

— la phase aqueuse de décantation des matières grasses contient les protéines solubilisées. Dans les meilleures conditions, (temps de contact 110 min, température 65 °C, ratio liquide/solide 7), 14 % des protéines sont ainsi extraites. Cependant la pureté des concentrats et lyophilisats obtenus dépend de l'efficacité de la décantation des matières grasses. Ils contiennent aussi une fraction minérale et d'hydrosolubles entraînés lors de l'extraction.

L'étude des surfaces de réponse des rendements d'extraction en lipides et en protéines permet donc de dégager plusieurs orientations pour optimiser en pureté et proportion les fractions granulats, matière grasse et protéines solubles issues du procédé de fractionnement aqueux. Ces prévisions ont été validées par des essais pilote de traitement de 64 kg de co-produits de jambon sec.

c) les trois fractions raffinat solide (GPM), matière grasse décantée (FMGD) et protéines solubilisées (FPS) issues d'un essai pilote de fractionnement aqueux mené en 30 min à 90°C avec un ratio eau/co-produit de 3,25 ont été analysées et caractérisées en vue d'évaluer leurs propriétés fonctionnelles pour de nouvelles applications :

— la FPS, obtenue sous forme de lyophilisat après concentration de la phase aqueuse, qui représente 8 % de la matière sèche du co-produit, contient majoritairement des protéines (52 %), une fraction minérale (29 %) correspondant essentiellement au chlorure de sodium

extrait (90 % de la matière minérale) et très peu de lipides (3 % correspondant à moins de 1 % des lipides du co-produit), ce qui montre l'efficacité de l'opération de décantation dans les conditions de l'essai pilote de fractionnement aqueux. Par ailleurs l'élimination du NaCl par déminéralisation permettra d'augmenter la pureté en protéines de cette fraction. Les protéines solubilisées, qui représentent 13 % des protéines du co-produit de jambon sec sont un mélange de protéines d'origine sarcoplasmique, myofibrillaire et collagénique, mais avec une répartition des acides aminés totaux proche de celle d'un collagène, et une forte proportion d'acides aminés libres (29 %). Les propriétés de solubilité dans l'eau, épaississante et gélifiante, thermique et adhésive, ainsi que stabilisante d'émulsion font de cette fraction minoritaire du procédé un produit avec multiples applications à forte valeur ajoutée : comme source de peptones pour la culture de champignons et de levures, comme adhésif naturel ou agent d'enrobage et de texturation. En outre sa teneur élevée en acides aminés libres, et surtout en GAG (3,4 % par rapport à la matière sèche) lui apporte une valeur supplémentaire comme ingrédient pour des formulations d'aliments pour animaux, et particulièrement de poissons, de produits nutraceutiques et cosmétiques,

— la FMGD, obtenue sous forme de solide pâteux, qui représente 24 % du co-produit de jambon, contient 93 % de lipides représentant 70 % des lipides initiaux, très peu de protéines (< 1 %) et pas de minéraux. Sa composition glycéridique (75 % en triglycérides, 4 % en diglycérides et 7 % en acides gras libres et en acides gras (37 % C16 :0, 15 % C18 :0, 44 % C18 :1, 45 % saturés, 55 % insaturés) montre que le fractionnement aqueux est sélectif et permet d'obtenir une matière grasse de plus grande pureté, avec un faible indice d'acidité et des caractéristiques physico-chimiques proches de celle d'un saindoux de qualité ; ce qui lui ouvre le champ d'application de ce type de matière grasse, pour l'oléochimie comme par exemple la fabrication de savon, ou comme vecteur énergétique (fuel de chaudière ou ester méthylique pour carburant). Ces domaines d'applications nécessitent cependant un raffinage des matières grasses (séchage, désodorisation, etc.). Par contre, dans le domaine agro-alimentaire, outre la teneur en stérols, les caractéristiques aromatiques de la FMGD, dont 19 composants volatils aromatiques ont été identifiés, et qui représentent 60 % des arômes majoritaires du jambon, pourraient lui apporter une spécificité recherchée en formulation alimentaire,

— enfin le GPM, qui représente 59 % du co-produit de jambon sec, contient 41 % de matière minérale, constituée à 95 % de phosphate de calcium, et 43 % de protéines insolubles, essentiellement de type collagénique, et moins de 16 % de lipides résiduels et pratiquement plus d'hydrosolubles. Il peut être séché et granulé sous forme de pellets pour devenir une base

stable et donc stockable pour la production de protéines animales transformées pour l'alimentation animale et le Pet Food, et pour la formulation d'engrais et de fertilisants. Il devient aussi une matière première de choix pour la fabrication de gélatine et de colle d'os. Par ailleurs, les propriétés thermomécaniques de ce granulat lui ouvrent aussi le nouveau domaine d'application des agromatériaux.

L'ensemble de ces résultats montre donc que le procédé de fractionnement aqueux, d'une mise en oeuvre relativement simple au plan technologique et adaptée à l'environnement et aux savoir-faire de l'industrie agro-alimentaire, conduit à trois nouvelles fractions qui peuvent être considérées comme des semi-produits, stables, d'une valeur nettement supérieure au co-produit de jambon sec, ce qui a motivé le dépôt d'un brevet (numéro de demande FR 1056093). Un premier dimensionnement d'un atelier de transformation du co-produit de jambon sec a été réalisé au sein de la société Aoste, ainsi qu'une étude des marchés d'application des nouveaux produits. Ils permettent d'orienter les actions de recherche et développement à venir pour un transfert de ce nouveau procédé.

Au niveau du procédé, l'utilisation de l'eau seule comme solvant du fractionnement présente l'avantage d'une minimisation des contraintes d'environnement et de sécurité et de préserver la qualité alimentaire des produits. Mais elle pose le problème de son recyclage et des coûts énergétiques associés. Plusieurs perspectives d'amélioration ont été évaluées par des essais préliminaires. Le recyclage direct de la solution protéique après décantation des matières grasses se heurte à l'effet défavorable d'un enrichissement en protéines solubilisées sur la cinétique d'extraction et l'efficacité d'entraînement des lipides. Une solution serait de séparer les protéines solubilisées par coagulation à pH et température contrôlés, mettant à profit leur très faible solubilité à pH 2. Une alternative, nécessitant une étude pour le choix des membranes, serait de concentrer les protéines par ultrafiltration. Ces deux voies présenteraient l'avantage de permettre aussi une purification de la FPS, en particulier pour diminuer sa charge minérale. Par ailleurs, la mise en oeuvre d'un décanteur centrifuge devrait permettre une meilleure séparation en continu des matières grasses. Ces deux points devront faire l'objet d'études à travers la réalisation d'un atelier pilote permettant aussi de produire les fractions et d'alimenter ainsi leur mise en test d'application.

En effet, les contacts industriels établis à travers l'étude des marchés d'application ont conduit à des demandes d'échantillons de plus grande taille, par exemple le GPM pour le marché des fertilisants. Dans d'autres cas, une meilleure définition des produits du fractionnement s'avère nécessaire pour réaliser les tests d'application, en particulier pour la FPS.

Enfin, les essais de faisabilité de mise en œuvre du procédé de fractionnement aqueux en extrudeuse bi-vis méritent d'être approfondis. En particulier la séparation des phases grasses et aqueuses obtenues au filtrat doit être étudiée, ainsi que les nouvelles perspectives de transformation du GPM extrudé dans le domaine des matériaux.

5. Partie expérimentale : mesures analytiques

5.1. Méthodes analytiques

5.1.1. Détermination de la matière sèche

Le taux de matière sèche a été déterminé selon la norme Afnor NF VO3-706. Les mesures sont réalisées en duplicat. Un échantillon de 1 à 2,5 g est pesé dans un creuset en porcelaine préalablement taré. Il est ensuite mis à l'étuve à 105 °C jusqu'à l'obtention d'une masse constante puis refroidi dans un dessiccateur en présence de sulfate de barium anhydre pendant 2 h. Le pourcentage de matière sèche est déterminé par la relation :

$$\%MS = m_{\text{sec}}/m_i \times 100$$

m_i = masse de l'échantillon initial (g),

m_{sec} = masse de l'échantillon sec (g) après passage dans l'étuve à 105 °C.

5.1.2. Analyse des minéraux

5.1.2.1. Dosage des minéraux

La teneur en matière minérale est déterminée par la perte de masse d'un échantillon d'après la norme NF 03-922. Après la détermination du taux de matière sèche, les creusets (deux par échantillon), sont placés dans un four pendant 6 h à 550 °C. Le pourcentage de matière minérale est calculé par la relation suivante :

$$\%MM = m_{\text{cendres}}/m_{\text{sec}} \times 100$$

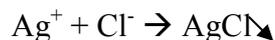
m_{sec} = masse de l'échantillon après passage à l'étuve à 105 °C (g)

m_{cendres} = masse de cendres issues de l'échantillon après calcination à 550 °C (g).

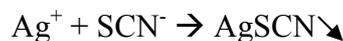
5.1.2.2. Détermination de la teneur en sel

La méthode de Charpentier-Volhard permet de doser les chlorures par un dosage en retour.

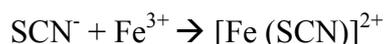
La première étape consiste à précipiter les chlorures. En présence de nitrate d'argent en solution aqueuse, les chlorures précipitent pour donner du chlorure d'argent :



Puis, l'excès d'ions argent est dosé par une solution titrée de thiocyanate de potassium en formant un précipité de thiocyanate d'argent :



Fin du dosage : à l'équivalence, la complexation de l'alun de fer et d'ammonium en thiocyanate de fer selon :



La solution prend une couleur rouge brune due à la complexation des ions Fe^{3+} avec les ions SCN^- . La concentration en chlorures est déterminée par la formule suivante :

$$C_{\text{Cl}^-} = (C_{\text{AgNO}_3} \times V_{\text{AgNO}_3}) - (C_{\text{KSCN}} \times V_{\text{KSCN}}) / m_{\text{Echantillon}} \times \text{dilutions}$$

Ce qui permet de calculer la masse en sel par la formule :

$$m_{\text{NaCl}} = C_{\text{Cl}^-} \times m_{\text{Echantillon}} \times M_{\text{NaCl}}$$

C_{Cl^-} = concentration de la solution en ions chlorures (en mol/l),

$m_{\text{Echantillon}}$ = masse de produit carné prélevée (en g),

M_{NaCl} = masse molaire du sel ($M_{\text{NaCl}} = 58,443$ g/mol).

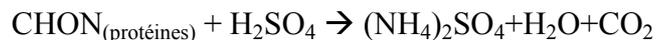
5.1.3. Analyse des protéines

5.1.3.1. Dosage des protéines par la méthode de Kjeldahl

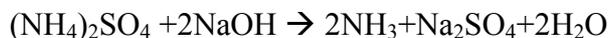
La teneur en protéines est déterminée par la méthode Kjeldahl selon la norme NF V 18-100. Cette méthode consiste en la transformation par minéralisation de l'azote organique contenu dans l'échantillon traité en azote minéral (ammoniac) puis au dosage acido-basique de cet azote minéral.

La minéralisation de la prise d'essai (de 0,5 à 1,5 grammes d'échantillon selon la teneur estimée en protéines) est effectuée par l'acide sulfurique concentré (12,5 ml à 95 %) en présence de deux pastilles de catalyseur (CuSO_4). Menée à 400 °C (> à la température d'ébullition de l'acide sulfurique – 337°C) à l'aide d'un appareil Tecator Digestor 2020, elle dure environ deux heures. Les produits de la réaction sont alors alcalinisés par une solution de soude à 40 %.

Minéralisation avec l'acide sulfurique :



Réaction d'alcalinisation par la soude :



Après refroidissement, l'ammoniac est entraîné de façon automatique par distillation à la vapeur à l'aide d'un appareil Tecator Kjeltac 2200 (Photographie 5- 1). Afin de déterminer la teneur en azote total de la matière organique, l'ammoniac est ensuite titré par une solution d'acide chlorhydrique à 0,1 N grâce au virage d'un mélange d'indicateurs colorés en solution dans l'acide borique à 4 %, le vert de bromocrésol et le rouge de méthyle. La teneur en protéines de l'échantillon est alors obtenue en multipliant la teneur en azote total par un facteur de conversion empirique. Ce coefficient prend en compte la masse molaire moyenne des acides aminés composant les protéines à quantifier. Il est fixé à 6,25 dans le cas de protéines d'origines animale. Notée P, la teneur en protéines est exprimée en pourcentage en masse et est égale à :

$$\mathbf{P=6,25 \times (Mn \times c \times (V_1-V_0))/m \times 100}$$

Mn est la masse molaire de l'azote (Mn = 14,007 g/mol),

c = concentration de la solution d'acide chlorhydrique (en mol/l),

V₀ = volume utilisé de la solution d'acide chlorhydrique sur un échantillon blanc (en ml),

V₁ = volume utilisé de la solution d'acide chlorhydrique (en ml),

M = masse de la prise d'essai (en mg).



Photographie 5- 1 : Appareil Tecator Kjeltac 2200

5.1.3.2. *Composition en acides aminés*

La détermination des acides aminés se déroule en deux étapes, premièrement l'hydrolyse qui consiste à amener les acides aminés en solution comme molécules libres et deuxièmement une étape chromatographique pour séparer les différents pics d'acides aminés avant leur quantification.

- Préparation des hydrolysats de protéine :

Une quantité connue d'échantillon est placée dans un tube d'hydrolyse en verre épais, sur lequel est ajouté un aliquote d'acide chlorhydrique (5,7 M) à constante ébullition dans un rapport de 1 ml d'HCl pour 10 mg de protéines. Le tube contenant l'échantillon est alors purgé avec de l'azote sans oxygène, cette étape est répétée deux ou trois fois avant de sceller le tube et de le placer à 110 °C pendant 24 heures. Après cette période, le tube est retiré et l'acide est extrait de l'échantillon à l'aide d'un évaporateur rotatif. L'échantillon est ensuite dilué en utilisant une quantité connue de tampon de chargement de pH 2,2 ; puis filtré à l'aide d'une membrane 0,2 µm.

- Chromatographie :

La chromatographie des acides aminés en hydrolysats et extraits est exécutée sur l'appareil Biochrom 30 (Biochrom, Cambridge, Royaume-Uni, Photographie 5- 2), qui contient des résines d'échange ionique, les acides aminés sont normalement déterminés par colorimétrie à 570 nm (440 nm pour la proline) après réaction avec la ninhydrine.



Photographie 5- 2 : Appareil Biochrom 30 employé pour le dosage des acides aminés

5.1.3.3. *Dosage du collagène*

La teneur en collagène est déterminée par le dosage de la L-Hydroxyproline qui est un acide aminé particulier présent en plus grande quantité dans le collagène que dans les autres protéines musculaires. Le dosage est effectué selon la norme ISO 3496 : 1994 ; l'échantillon est hydrolysé avec de l'acide sulfurique à 105 °C pendant 16 h. Après filtration et dilution de l'hydrolysate, le contenu en hydroxyproline est déterminé par oxydation avec de la chloramine-T et la réaction avec le p-diméthylaminobenzaldéhyde (60 °C pendant 20 minutes) qui forme un complexe coloré mesurable à 558 nm. La concentration en collagène est alors obtenue en multipliant la concentration en hydroxyproline par un facteur de 8, qui correspond à une teneur en hydroxyproline de 12,5 % dans le collagène.

5.1.3.4. *Séparation des protéines en fonction de leur solubilité*

La méthode employée est une adaptation de la procédure de Nuckles (Nuckles et al., 1990). 10 g de FPS sont ajoutés à 4 volumes de solution tampon de sodium phosphate 0,05 M, pH 7,4. L'extraction s'effectue sous agitation à 4 °C pendant 3 h. Le mélange est ensuite centrifugé (Centrifugeuse Fisher Bioblock Scientific K15) à 20 000 g pendant 15 minutes à 4 °C. Le surnageant est conservé et le culot ré-extrait pendant 1 h. Après centrifugation, les surnageants sont rassemblés. Ils constituent la partie protéique « Low Ionic Strength soluble » (LIS) qui contient les protéines sarcoplasmiques. Le culot est mélangé à 4

volumes de tampon phosphate 0,05 M ph 7,4 / NaCl 0,6 M et extrait deux fois de la même façon que décrit précédemment. Les surnageants obtenus constituent les protéines « High Ionic Strenght soluble » (HIS), c'est-à-dire les protéines myofibrillaires. Enfin, le précipât final correspond à la fraction « Insoluble » (IN) contenant majoritairement le collagène et l'élastine.

5.1.3.5. Solubilité des protéines

La solubilité des protéines est effectuée sur la matière première en solution à un ratio L/S de 13,3 ou sur un lyophilisat de protéines solubilisées à un ratio L/S de 20. Dans huit éprouvettes, le pH est ajusté respectivement à 2, 4, 6, 7, 8, 10 et 12 puis cette solution est homogénéisée pendant une heure.

Les solutions sont ensuite centrifugées à 1800 g pendant 15 min à 25 °C (centrifugeuse Sigma 6K15, rotor 12150 H). Le surnageant est récupéré et ses protéines sont dosées par la méthode de Kjeldahl.

5.1.4. Analyse des lipides

5.1.4.1. Dosage de la matière grasse

Les lipides sont extraits au cyclohexane à l'aide d'un appareil de Soxhlet.

Avant utilisation, les ballons de 250 ml et les cartouches de cellulose (125 ml) sont séchés à l'étuve à 103 °C. Environ 10 g d'échantillon sont introduits dans la cartouche en cellulose et 150 ml d'hexane sont déposés dans le ballon. Le cyclohexane est chauffé à reflux pendant 5 h. La quantité de lipides est évaluée par pesée après évaporation du cyclohexane à l'évaporateur rotatif et séchage de l'échantillon à l'étuve à 50 °C pendant 12 h. La teneur en lipides est ensuite calculée selon l'équation suivante :

$$\%L = (m_{b1} - m_{b0}) / (m_e \times MS / 100) \times 100$$

L = teneur en lipides par rapport à la matière sèche de l'échantillon (%)

M_{b0} = masse du ballon vide contenant environ 0,5g de pierre ponce (g)

M_{b1} = masse du ballon contenant la pierre ponce et l'extrait lipidique sec (g)

M_e = masse de l'échantillon introduite dans la cartouche.

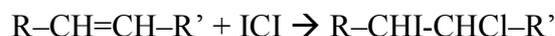
MS = le pourcentage de matière sèche de l'échantillon de départ.

5.1.4.2. Détermination du profil d'acides gras

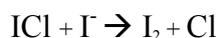
20 mg de matière grasse sont solubilisés dans 1 ml de Tert Butyl Methyl Ether (TBME). 100 µl de cette solution sont placés dans un insert et dérivatisés avec 50 µl de Trimethyl sulphonium hydroxyde (TMSH) à 0,5 M dans du méthanol. Le mélange est agité doucement puis 1 µl est prélevé puis injecté en GC-FID. La colonne utilisée est une CP-Select CB for FAME fused silica WCOT de longueur 50 m et de diamètre interne 0,25 mm. La méthode est conçue avec une programmation de température de 185 °C pendant 40 minutes, puis une augmentation de température de 15 °C/min jusqu'à 250 °C, et enfin une température de 250 °C pendant 10 min et 40 s. (le temps d'analyse total est de 55 minutes). Le split utilisé est de 1 :100, 1 µl et la température de l'injecteur ainsi que du détecteur est de 250 °C.

5.1.4.3. Détermination de l'indice d'iode

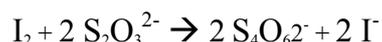
L'indice d'iode exprime le degré d'insaturation d'un corps gras. Il peut se déterminer par dosage des doubles liaisons par du diiode (I₂), et correspond alors à la masse de I₂, exprimée en gramme, fixée pour 100 g de corps gras. Pour faciliter la réaction d'addition, le réactif de Wijs (ICl) est utilisé préférentiellement à I₂. D'abord, ICl est introduit en excès et réagit sur les doubles liaisons selon la réaction d'addition suivante :



Puis, l'excès d'ICl est transformé en I₂ selon la réaction suivante :



Le diiode formé est alors dosé par le thiosulfate de sodium selon la réaction :



Le degré d'insaturation est exprimé par la formule :

$$Wi = 12,69 \times c \times (V_1 - V_2) / m$$

Wi est l'indice d'iode en g/100g de corps gras,

c = concentration de la solution de thiosulfate de sodium (mol/l),

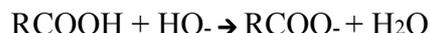
V_1 = volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisée pour l'essai à blanc (ml),

V_2 = volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisée pour l'essai contenant les corps gras,

m = masse de la prise d'essai (g).

5.1.4.4. Détermination de l'indice d'acide

L'indice d'acide témoigne de la « fraîcheur » d'une huile et correspond à la masse nécessaire d'hydroxyde de potassium (en milligramme) à ajouter, pour un gramme d'huile, afin de neutraliser tous les acides gras libres dans la prise d'essai. L'indice d'acide est déterminé par un dosage acide/base en retour. Le corps gras réagit avec un excès connu de potasse alcoolique selon la réaction suivante :



L'excès de potasse est alors dosé par une solution d'acide chlorhydrique. L'indice d'acide est déterminé selon la formule :

$$\text{Indice d'acide} = 56,1 \times V \times C / m$$

V = volume de la solution titrée d'hydroxyde de potassium utilisée (ml),

C = concentration exacte de la solution titrée de KOH (mol/l),

m = masse de la prise d'essai (g).

L'indice d'acide est exprimé en mg/g.

5.1.4.5. Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde d'un corps gras correspond au nombre de microgrammes d'oxygène actif contenu dans un gramme de produit capable d'oxyder l'iodure de potassium avec libération d'iode. Sa détermination opérée suivant la norme AFNOR NF T 60-220 reflète l'état d'oxydation de l'huile.

Entre 1,2 et 2 g de corps gras sont prélevés, puis dissous dans 10 ml de chloroforme. Après l'ajout de 15 ml d'acide acétique puis 1 ml de solution d'iodure de potassium, le flacon est bouché puis agité pendant une minute. Le flacon est ensuite placé à l'obscurité pendant 5

min. Après avoir rajouté 75 ml d'eau distillée, l'iode libéré est dosé en présence d'indicateur d'iode avec une solution de thiosulfate de sodium.

L'indice de peroxyde est exprimé suivant la relation :

$$\text{ImeqO}_2/\text{kg d'huile} = 1/8 \times 8000 \times ((v - v_0) / E)$$

E = masse de la prise d'essai en gramme,

v = volume de solution de thiosulfate de sodium exprimé en ml,

v₀ = volume de solution de thiosulfate de sodium pour l'essai à blanc.

5.1.4.6. *Indice de saponification*

L'indice de saponification est déterminé par la norme NF T60-206. Il correspond au nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire pour saponifier 1 g de matière grasse. 25 ml d'hydroxyde de potassium 0,5 M sont ajoutés dans un ballon contenant 2 g d'échantillon de corps gras. Le tout est porté à ébullition pendant 1 h. Après ajout de quelques gouttes de phénolphtaléine, le mélange est titré à chaud avec de l'acide chlorhydrique 0,5 M dont le titre est connu précisément jusqu'à disparition de la couleur rouge. Un essai à blanc (sans corps gras) est également réalisé.

L'indice de saponification est donné par la formule suivante :

$$I_s = (v_0 - v_1) \times M \times 56,1 / M_s$$

v₀ = volume d'acide chlorhydrique coulé pour l'essai à blanc (ml),

v₁ = volume d'acide chlorhydrique coulé pour l'échantillon (ml),

M = molarité de l'acide chlorhydrique (mol/l) 0,5,

M_s = masse de l'échantillon (mg).

5.1.4.7. *Dosage des triglycérides*

L'analyse est réalisée sur un chromatographe Perkin Elmer Instrument équipé d'une colonne capillaire de type CP sil 8 CB ms (5 % phényl, 95 % diméthylpolysiloxane) de 15 m de longueur, de 0,25 mm de diamètre interne et d'une épaisseur de film de 0,25 µm. Le gaz vecteur est l'hélium. A la sortie de la colonne, les composés sont détectés par un détecteur à ionisation de flamme (FID). L'injection est effectuée en mode « on-column ». Ainsi, la totalité de la solution injectée est introduite puis vaporisée dans la colonne. L'élévation de la

température dans le four permet d'atteindre le point d'ébullition des triglycérides sans que cela n'entraîne leur dénaturation. Le principe de ce mode d'injection est la dilution de la solution entraînée de manière à ne pas saturer la colonne. Le solvant choisi pour cette dilution est le cyclohexane (grade analytique) car il permet la solubilisation de tous les constituants du milieu réactionnel.

Les solutions obtenues sont ensuite « silylées » avant injection. Pour cela, 180 µl de solution échantillon et 20 µl d'un mélange de N-méthyl-N-triméthylsilyl-heptafluorobutyramide (MSHFBA) et de méthylimidazole (MI) sont introduits dans un vial que l'on agite manuellement. La réaction de silylation est catalysée par la chaleur : les vials sont déposés dans l'étuve à 105 °C pendant 2-3 min puis reposent 15 min à température ambiante. Le MSHFBA permet la silylation des groupements hydroxyles présents sur les monoglycérides, les diglycérides et les acides gras. Cette transformation (Figure 5- 1) a pour but d'augmenter la volatilité et la stabilité des composés hydroxylés injectés, et par conséquent d'améliorer leur détection.

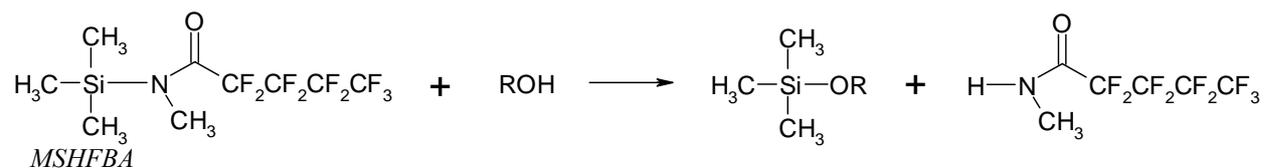


Figure 5- 1: Schéma de la réaction de silylation d'un groupement hydroxyle

La température du four au moment de l'injection est de 55 °C. Cette température est maintenue pendant 0,5 min puis deux gradients de température sont appliqués jusqu'à atteindre 360 °C. La température du four varie donc selon le programme suivant :

- Température initiale de 55 °C pendant 0,5 min,
- Montée de température de 45 °C.min⁻¹ jusqu'à 80 °C,
- Montée de température de 10 °C.min⁻¹ jusqu'à 360 °C,
- Palier à 360 °C pendant 11 min.

5.1.4.8. Dosage des stérols

Le dosage des stérols suit un protocole en deux étapes. Premièrement, on effectue une saponification :

- Préparation d'une solution à 2 mg/ml de choléstanol dans le chloroforme (soit 5 mg dans 2,5 ml de CHCl₃); pesée avec exactitude d'environ 50 µl de la solution de choléstanol dans un tube à hémolyse fermé (soit 100 µg de choléstanol); évaporation du chloroforme.

- Pesée avec exactitude d'environ 0,200 g de corps gras,
- Ajout de 2 ml de potasse 1 M dans l'éthanol,
- Agitation au vortex et chauffage 20 min à 75 °C (agitation au vortex après 10 min de chauffage).

Ensuite, on extrait l'insaponifiable :

- Refroidissement du mélange réactionnel à température ambiante,
- Ajout d'1 ml d'eau distillée et agitation au vortex,
- Ajout de 6 ml d'isohexane et agitation au vortex,
- Décantation et récupération de la phase hexanique.

Puis on prépare l'échantillon pour une injection :

- Silylation de l'échantillon = 160 µl d'extrait insaponifiable + 40 µl de MSHFBA+MI (1 ml MSHFBA + 50 µl méthyl imidazole) et chauffage 2-3 min à 105 °C,
- Injection (Tableau 5- 1).

Module	Stérols
Appareil	CPG PERKIN ELMER
Standards chimiques	Choléstanol
Colonne	CP Sil 8CB
Dimensions colonne	30 mx 0,25 mm(ID); 0,25 µ(df)
Gaz vecteur	Hélium
Débit ou pression	100 kPa
Volume injecté on-column	1 µl
Température injecteur	De 55 °C (0,5min) à 340 °C @200 °C/min; 340 °C (30 min)
Température détecteur	FID, 365 °C
Four	De 160 °C (0,5 min) à 260 °C @20 °C/min; 260 °C (5,5 min); à 300 °C @2 °C/min; 300 °C (10 min); à 350 °C @ 45 °C/min; 350 °C (3 min)

Tableau 5- 1 : Conditions chromatographiques d'HPLC pour le dosage des stérols

5.1.4.9. Dosage des insaponifiables

La détermination de la teneur en matières insaponifiables suit la norme NF EN ISO 18609 : 2001-12 et s'applique sur les corps gras d'origine animale ou végétale. Les matières insaponifiables regroupent toutes les substances présentes dans le produit, qui après saponification par hydroxyde de potassium et extraction à l'hexane, ne sont pas volatiles dans les conditions opératoires spécifiées.

- pesée de 5 g d'échantillon à 0,01 g près dans un ballon de 250 ml,

- saponification : ajout de 50 ml de solution d'hydroxyde de potassium (KOH) 1 mol/l dans le ballon avec de la pierre ponce, chauffé pendant 1 h à légère ébullition. Après 1 h, arrêt du chauffage et ajout de 50 ml d'eau,
- extraction des matières insaponifiables : la solution est transvasée dans une ampoule à décanter. Le ballon est rincé plusieurs fois à l'hexane (utiliser au total 50 ml d'hexane). Après agitation pendant 1 min, on laisse reposer jusqu'à séparation des deux phases, puis on soutire la phase inférieure. Cette étape est réalisée trois fois,
- lavage des extraits hexaniques. Ce lavage s'effectue trois fois avec des fractions de 25 ml de solution d'éthanol à 10 % en agitant vigoureusement et en éliminant la solution hydroalcoolique,
- évaporation du solvant : la solution hexanique est transférée dans un ballon de 250 ml préalablement séché à 103 °C, refroidi et pesé à 0,1 mg près. L'évaporation se réalise sur l'appareil Rotavapor.
- séchage : le résidu est séché 15 min à l'étuve réglée à 103 °C, puis refroidi et pesé à 0,1 mg près. On sèche par périodes de 15 min jusqu'à ce que la perte de masse successive entre deux pesées soit inférieure à 1,5 mg.

La valeur des insaponifiables est donnée par la formule :

$$I_{\text{Insaponifiables}} = 100(m_1 - m_2 - m_3)/m_0$$

m_0 = masse, en grammes, de la prise d'essai,

m_1 = masse, en grammes, du résidu,

m_2 = masse, en grammes, du résidu obtenu avec le blanc,

m_3 = masse, en grammes, des acides gras libres éventuellement présents, égale à 0,28 fois le volume en ml de la solution éthanolique titrée d'hydroxyde de potassium utilisée pour le titrage multiplié par la concentration exacte en moles/l de la solution éthanolique titrée d'hydroxyde de potassium.

5.1.5. Analyse des arômes

5.1.5.1. Extraction des arômes

Plusieurs méthodes d'extraction ont été utilisées lors de l'analyse des arômes :

- **Head space dynamique** : 10 à 20 g de FPS lyophilisée ou d'échantillon sont placés dans une cellule en verre de 300 ml. Le débit d'hélium est réglé à 40 ml/min et un piège contenant 200 mg de TenaxTM est placé en sortie de cellule pour piéger les composés odorants volatils (COV). L'extraction se déroule pendant 20 min et les COV sont analysés sur un appareil thermodésorbeur-GC-MS.

- **Thermodésorption directe** : un échantillon de 10 à 50 mg est introduit dans un piège vidé de son adsorbant entre deux bouchons de laine de verre puis analysé sur un thermodésorbeur GC-MS.

- **Solid Phase Micro Extraction (SPME)** : de 0,5 à 2 g de FPS lyophilisée ou 9,5 g de matière grasse solide sont introduits dans un vial de 10 ml (Agilent) serti avec un septum en téflon (PTFE-faced Supelco, Bellafonte, PA, USA). Les échantillons sont chauffés à 50 °C pour les matières grasses, non chauffés pour les lyophilisats. Une fibre SPME polydiméthylsiloxane (PDMS) de 100 μ (Supelco) est exposée dans l'espace de tête de l'échantillon pour l'adsorption des COV de 30 min. à 1 heure. Après exposition, les composés aromatiques sont désorbés en insérant la fibre sur le port d'injection d'une GC réglé à 250 °C pendant 3 min en mode splitless.

- **Simultaneous Distillation-Extraction (SDE)**

- Pour le FPS : les COV sont isolés par hydrodistillation-extraction simultanée. 5 g de FPS lyophilisée sont solubilisés dans 50 ml d'eau distillée dans un ballon de 100 ml fixé sur un système modifié de Liken-Nikerson. 25 ml de cyclohexane sont ajoutés dans un ballon de 50 ml. 10 ml d'eau puis 10 ml de solvant sont introduits dans la boucle du système. Les deux ballons sont chauffés séparément pendant 2 heures, ce qui génère des vapeurs. Ces vapeurs vont être dirigées vers un extracteur central dans lequel ont lieu les échanges, puis condensées dans un doigt froid. Le cyclohexane du ballon et de la boucle est collecté et concentré sous courant d'azote jusqu'à un volume d'environ 250 μ l, puis 1 μ l est injecté en GC-MS et en FID.

- Pour la matière première et la fraction matière grasse : 30 g de matière sont solubilisés dans 300 ml d'eau distillée dans un ballon de 500 ml fixé sur un montage Liken-Nikerson. 30 ml de pentane sont ajoutés dans un ballon de 50 ml. 15 ml de solvant sont introduits dans la boucle du système, ainsi que 5 μ l de dodécane (étalon interne).

Un blanc, qui ne contient pas l'échantillon, est réalisé entre chaque analyse.

- **Extraction liquide/solide** : 1 g de FPS lyophilisée est solubilisé dans 40 ml de cyclohexane ou d'éther et mis sous agitation automatiquement pendant 2 h 30. Les extraits obtenus sont concentrés sous un courant d'azote jusqu'à 250 μ l, puis 1 μ l est injecté en GC-MS.

5.1.5.2. *Etude de l'interaction arômes-protéines*

La FPS lyophilisée, la fraction HIS ou LIS sont solubilisés dans de l'eau afin d'obtenir des concentrations finales de 1 ; 0, 5 et 0,2 mg/ml afin de tester l'influence de la

concentration en protéines. Les essais sont réalisés en duplicat. Parallèlement, une solution mère de 50 000 mg/kg d'hexanal est préparée dans de l'éthanol. L'hexanal est ensuite ajouté aux homogénats de protéines afin d'obtenir une concentration finale de 1 mg/kg. L'hexanal est ensuite ajouté aux différentes solutions protéiques comme décrit précédemment. 5 ml de chaque solution sont introduits dans un vial de 10 ml serti avec un septum en téflon (Supelco). Une solution témoin, sans protéines, est préparée. Les vials sont stockés pendant 16 h à 30 °C pour permettre l'équilibre. La quantité d'hexanal présent dans l'espace de tête des solutions est déterminée en utilisant la SPME. Une fibre de 75 µm PDMS (Supelco) est exposée dans l'espace de tête pendant 30 min. Les COV sont ensuite analysés par GC-MS et la quantité d'hexanal pour les différentes solutions est exprimée comme le pourcentage d'hexanal libre témoin dans les homogénats protéiques.

5.1.5.3. *Analyse des arômes*

- GC-MS

Les analyses sont effectuées sur un appareil de chromatographie gazeuse Agilent 6890 Series couplé à un spectromètre de masse Agilent 5973 Network Mass Selective Detector (Agilent Technologies, Inc., USA). Les composés volatils sont séparés sur une colonne non polaire capillaire de type DB-5 MS, 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm (J1W Scientific). Le débit de la colonne est de 1,6 ml/min. Le programme de température correspond à un gradient de 40 °C à 200 °C à raison de 5 °C/min puis un isotherme à 200 °C pendant 5 min. La température de la source est de 250 °C, la ligne de transfert est de 280 °C et l'énergie d'ionisation de 71 eV pour un scan de masse de 35 à 250 Da. Afin de calculer les indices de rétention, une série d'alcane de C5 à C18 est injectée.

- Thermodésorbteur-GC-MS

Les COV sont désorbés du piège TenaxTM par un thermodésorbteur TurboMatrix TD Perkin Elmer connecté directement à un appareil de chromatographie gazeuse Clarus 500 Perkin Elmer couplé à un détecteur de masse Clarus 500 perkin Elmer et un détecteur FID. Le piège est chauffé à 250 °C pendant 15 min et les COV sont cryoconcentrés à -25 °C à l'entrée d'une colonne capillaire DB5 ms 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm (J1W Scientific). L'hélium est utilisé comme gaz vecteur. Le programme de température comprend un palier isotherme initial à 60 °C durant 5 min puis un gradient jusqu'à 200 °C à raison de 5 °C/min et maintenu une minute. La température de l'injecteur est de 250 °C à une pression de 108 bars et un débit de 68,5 ml/min. L'énergie d'ionisation de 70 eV. Le scan s'effectue de 19 à 350 Da.

L'identification des composés se fait par comparaison des spectres avec ceux de la base de données NIST 2005.

- GC-MS, GC-FID

Ces analyses sont effectuées à partir des SDE réalisés sur les matières premières et la matière grasse. Les analyses GC-MS ont été réalisées sur deux types d'appareils (Tableau 5-2).

Module	MS		FID (2 SDE)
Appareil	Agilent 6890 Series GC System, 5973 Network MSD	GC/MS Perkin Elmer Clarus 500	GC/FID HP5890 Serie II
Colonne	DB5-MS	DB5-MS	DB5-MS
Dimensions colonne	30mx0,25mmIDx0,25µdf	30mx0,25mmIDx0,25µdf	30mx0,25mmIDx0,25µdf
Gaz vecteur	Hélium	Hélium	Hélium
Débit ou pression	1,3 ml/min	22 psi	15 psi
ratio split	1:10	1:10	36 ml/min
Volume injecté	1 µl	1 µl	1 µl
Température injecteur	250 °C	250 °C	300 °C
Température détecteur	250 °C	250 °C	300 °C
Four	de 40 °C à 250 °C à 5 °C/min puis 10 min à 250 °C	de 40 à 250°C à 5 °C/min puis 10 min à 250 °C	de 40 °C à 250 °C à 10 °C/min puis 10 min à 250 °C
Energie ionisation	70 eV	70 eV	
MS Scan paramètres	de 30 à 350 m/z	de 15 à 400 m/z	

Tableau 5- 2 : Conditions chromatographiques des SDE de la matière première

5.1.5.4. Etude des interactions arômes-protéines – analyse statistique

— Concentration en protéines de 1mg/ml

Source	DDL	Somme des carrée	Moyenne des carrés	F	Pr>F
Modèle	3	2058,988	686,329	1971,963	<0,0001
Erreur	4	1,392	0,348		
Total corrigé	7	2060,380			

Calculé contre le modèle Y=moyenne(Y)

Tableau 5- 3 : Analyse de la variance pour une concentration en protéines de 1 mg/ml

Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95 % :

Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr>Diff	Significatif
T vs FPS1	32,154	54,502	3,564	<0,0001	Oui
T vs HIS1	29,708	50,356	2,776	<0,0001	Oui
T vs LIS1	43,386	73,541	4,071	<0,0001	Oui
HIS1 vs LIS1	13,678	23,185	3,564	<0,0001	Oui
HIS1 vs FPS 1	2,446	4,146	2,776	0,014	Oui
FPS1 vs LIS1	11,232	19,039	2,776	<0,0001	Oui

T= témoin

Tableau 5- 4 : Analyse des différences pour une concentration en protéines de 1 mg/ml

— Concentration en protéines de 0,5 mg/ml

Source	DDL	Somme des carrée	Moyenne des carrés	F	Pr>F
Modèle	3	1192,344	397,448	524,378	<0,0001
Erreur	4	3,032	0,758		
Total corrigé	7	1195,376			

Calculé contre le modèle Y=moyenne(Y)

Tableau 5- 5 : Analyse de la variance pour une concentration en protéines de 0,5 mg/ml

Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95 % :

Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr>Diff	Significatif
T vs FPS 0,5	20,423	23,458	2,776	<0,0001	Oui
T vs HIS 0,5	21,629	24,844	3,564	<0,0001	Oui
T vs LIS 0,5	34,041	39,101	4,071	<0,0001	Oui
HIS 0,5 vs LIS 0,5	12,412	14,257	2,776	0,000	Oui
FPS 0,5 vs HIS 0,5	1,207	1,386	2,776	0,238	Non
FPS 0,5 vs LIS 0,5	13,619	15,643	3,564	0,000	Oui

T= témoin

Tableau 5- 6 : Analyse des différences pour une concentration en protéines de 0,5 mg/ml

— Concentration en protéines de 0,2 mg/ml

Source	DDL	Somme des carrée	Moyenne des carrés	F	Pr>F
Modèle	3	788,582	262,861	246,498	<0,0001
Erreur	4	4,266	1,066		
Total corrigé	7	792,947			

Calculé contre le modèle $Y=\text{moyenne}(Y)$

Tableau 5- 7 : Analyse de la variance pour une concentration en protéines de 0,2 mg/ml

Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95 % :

Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr>Diff	Significatif
T vs FPS 0,2	10,549	10,216	2,776	0,001	Oui
T vs HIS 0,2	15,871	15,369	3,564	0,000	Oui
T vs LIS 0,2	27,561	26,689	4,071	<0,0001	Oui
HIS 0,2 vs LIS 0,2	11,690	11,320	2,776	0,000	Oui
FPS 0,2 vs HIS 0,2	5,322	5,154	2,776	0,007	Oui
FPS 0,2 vs LIS 0,2	17,012	16,474	3,564	0,000	Oui

T= témoin

Tableau 5- 8 : Analyse des différences pour une concentration en protéines de 0,2 mg/ml

5.1.6. Analyse des glycosaminoglycanes sulfatés

Ce dosage est réalisé à l'aide du kit Blyscan™ commercialisé par Biocolor. Il s'agit d'une technique colorimétrique et le colorant utilisé est le bleu de méthylène (DMMB). Ce dernier va se fixer sur les sulfates présents sur les chaînes de GAG pour former des complexes colorés que l'on pourra détecter par mesure de l'absorbance à 656 nm. La liaison créée entre la DMMB et la fonction SO_4^{2-} est de type ionique.

Un blanc, 5 standards de C-4S de concentrations différentes ainsi que les échantillons sont préparés dans des eppendorfs. Toutes les mesures sont réalisées en double. Le volume de chaque eppendorf est complété à 100 µl avec de l'eau distillée puis 1 ml de réactif coloré (DMMB) est ajouté. Les tubes sont laissés sous agitation mécanique pendant 30 min à température ambiante. Ils sont ensuite centrifugés à 10 000 g pendant 15 min à température ambiante (centrifugeuse Sigma 6K15, rotor 12130 H) afin de récupérer les complexes colorés dans le culot. Le surnageant est éliminé et les culots sont remis en suspension dans 1 ml de réactif de dissociation (sels chaotropiques dans une solution aqueuse de propanol), la solubilisation est optimisée par passage des tubes sur vortex. Enfin, l'absorbance de chaque tube est lue à 656 nm (spectrophotomètre UV-1800 double faisceau, Shimadzu). La concentration en GAG dans les échantillons est calculée grâce à la courbe étalon réalisée à l'aide des standards de chondroïtine sulfate (CS).

5.2. Caractérisations physico-chimiques et mécaniques

5.2.1. Propriétés moussantes

Les propriétés moussantes sont mesurées à l'aide de la méthode décrite par Padmashree (Padmashree et al., 1987). 3 g de tensioactifs sont mélangés à 300 ml d'eau dans une éprouvette graduée d'1 litre. La suspension est agitée à 1600 tr/min pendant 5 min à l'aide du Turbotest Raynerie. Le volume est mesuré 30 s après agitation. La capacité moussante CM est exprimée en pourcentage du volume en utilisant la formule suivante

$$\text{CM} = (\text{Volume après agitation} - \text{Volume avant agitation}) / \text{Volume avant agitation} \times 100$$

Le volume de mousse est enregistré à 5, 30, 60, 120 et 300 min après agitation. La stabilité moussante SM est calculée à l'aide de la formule suivante :

$$\text{SM} = \text{Volume de la mousse après un temps } t / \text{Volume de la mousse initial} \times 100$$

5.2.2. Propriétés émulsionnantes

Les propriétés émulsifiantes sont mesurées en utilisant une méthode inspirée de celle décrite par Yasamatsu (Yasamatsu et al., 1972). Les tensioactifs (1,25 g) sont homogénéisés avec 50 ml d'eau pendant 30 s, avec un homogénéisateur Ultra Turrax à 11 000 tr/min. De l'huile de tournesol (25 ml) est ajoutée à chaque échantillon, et le mélange est homogénéisé de nouveau à 11 000 tr/min pendant 90 s. Le volume de l'émulsion est mesuré 30 s après l'homogénéisation. La capacité émulsionnante CE est exprimée en pourcentage de volume en utilisant la formule suivante :

$$\text{CE} = \text{Volume de l'émulsion après agitation} / \text{Volume total avant agitation} \times 100$$

Les émulsions obtenues sont ensuite divisées de façon égale dans 3 tubes. Le volume de l'émulsion est enregistré à 5, 30, 60, 120 et 300 min après homogénéisation. La stabilité émulsionnante SE est exprimée en pourcentage de volume en utilisant la formule suivante :

SE = Volume de l'émulsion après un temps t / Volume initial de l'émulsion x 100.

5.2.3. Rhéologie en phase fondue

L'analyse rhéologique de la FPS lyophilisée est effectuée à l'aide d'un micro-compounder Haake MiniLab (Thermo Fisher Scientific, Etats-Unis) (Photographie 5- 3) constitué d'une extrudeuse baxis (vis coniques co-rotatives) et d'un canal de recirculation qui permet à la matière fondue (jusqu'à 350 °C) de circuler en boucle dans l'appareil. Deux capteurs de pression situés dans la zone de recirculation permettent d'évaluer la perte de charge dans la filière plate sous un gradient de vitesse donné donc la viscosité à la température de l'essai. L'alimentation se fait à l'aide d'un piston pneumatique. 7 cm³ de matière sont nécessaires à l'analyse.



Photographie 5- 3 : Rheomètre Haake MiniLab (à gauche) et détail du canal de recirculation (à droite)

5.2.4. DSC

La technique d'analyse enthalpique différentielle (DSC) permet d'évaluer l'état de dénaturation des protéines concentrées dans les solides (notamment les « plaques » produites à partir des FPS). L'appareil mis en œuvre est un calorimètre Perkin Elmer Pyris 1 (Perkin Elmer, France), constitué de deux fours en platine situés dans une enceinte hermétique soumise à un balayage continu par un courant d'azote sec (gaz de purge utilisé à un débit de 20 ml/min). Le calorimètre est également équipé d'un système de refroidissement Perkin Elmer Intracooler permettant d'atteindre une température minimale dans les fours de -65 °C. La calibration en température et énergie est effectuée avant chaque campagne d'analyses à l'aide d'échantillons d'eau et d'indium (respectivement 0 °C et 156,6 °C pour les températures de fusion).

En raison de l'hydratation des solides et afin d'éviter toute perte d'eau pendant la mesure, la prise d'essai (10 mg environ) est conditionnée dans des capsules hermétiques en

acier de 60 μl et serties avec un joint torique en caoutchouc autorisant une pression interne de 40 bars.

Etudié en triplicat, l'échantillon est positionné dans l'un des fours, l'autre accueillant une capsule vide. Les deux fours sont chauffés à la même vitesse et suivant une rampe de température linéaire de 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$, de 50 à 200 $^{\circ}\text{C}$.

Le logiciel Pyris permet l'acquisition des grandeurs expérimentales mesurées et le traitement des thermogrammes. Les températures de dénaturation des protéines extraites du coproduit de jambon et les énergies nécessaires à cette transformation sont ainsi déterminées (enthalpies de dénaturation).

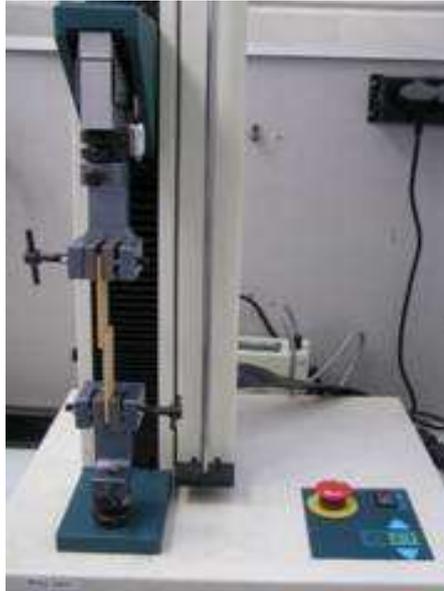
5.2.5. Analyse thermique mécanique

Les analyses thermiques mécaniques dynamiques (AMD) sont réalisées à l'aide de l'appareil Triton Technology Dynamic Mechanical Analysis, piloté par le logiciel DMA Triton. Ce dernier traite les données pour fournir des spectres mécaniques dynamiques (module de perte (G'') ou de conservation (G') et tangente δ en fonction de la température). Les échantillons sous forme de poudre sont introduits dans une petite pochette métallique, inerte d'un point de vue des relaxations, dont les dimensions sont : 30 mm x 7 mm x 1,3 mm. L'analyse s'effectue selon le principe de la flexion deux points à trois fréquences différentes (1 Hz, 5 Hz et 10 Hz). Le mors mobile, distant de 10 mm du mors fixe, se déplace d'une amplitude de 100 μm . La température est portée de -50 $^{\circ}\text{C}$ à 200 $^{\circ}\text{C}$ à une vitesse de 3 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

5.2.6. Essais mécaniques

Dans les deux types d'essai mécanique, l'appareil utilisé est un banc d'essai JFC modèle H5KT (Photographie 5- 4).

Le logiciel Q.MAT 4.53 permet à la fois de consigner les variables d'essais, d'acquérir et de traiter les données.



Photographie 5- 4 : Banc d'essai mécanique

5.2.6.1. *Essais en traction (pour la détermination du pouvoir collant)*

Pour les essais en traction (NF EN ISO 527-1), le banc d'essai est équipé de mors auto-serrants et d'une cellule de force de 5 kN. La longueur de référence est 114 mm, et la vitesse d'écartement des mors $5 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$.

Les éprouvettes sont de type 1 A (norme ISO 527-2), (dépôt de 30 mg de solution collante sur une zone de contact de 2,8 cm par 1,25 cm, soit un grammage d'induction de $85,7 \text{ g/m}^2$, et stockées 3 semaines en enceinte climatique à 60 % d'humidité relative (HR) et $25 \text{ }^\circ\text{C}$ avant analyse :

- Module d'Young $= E_y = \frac{1}{b \times e} \times \frac{F_2 - F_1}{\epsilon_{T2} - \epsilon_{T1}}$, avec b et e respectivement la

largeur et l'épaisseur de l'éprouvette, F_1 et F_2 les forces mesurées aux valeurs de déformation $\epsilon_{T1}=0,0005$ et $\epsilon_{T2}=0,0025$,

- contrainte maximale à la rupture : $\sigma_{\max} = \frac{F_{\max}}{b \times e}$, avec F_{\max} la force maximale,
- allongement maximal : $\epsilon_{\max} = 100 \times \frac{\Delta L_{\max}}{L}$, avec $L=114 \text{ mm}$ et ΔL_{\max} le gain

de longueur de l'éprouvette en mm.

5.2.6.2. Essais en flexion

Le banc d'essai est alors équipé d'un module de flexion trois points et d'une cellule de force 100 N. Les éprouvettes (norme ISO 178) sont stockées en enceintes climatiques à 60 % HR et 25 °C. L'écartement entre les deux points d'appui de l'éprouvette est de 50 mm. Le point de compression est équidistant de ces deux points d'appui. Le module de compression appuie à une vitesse de 6 mm.min⁻¹ sur l'éprouvette.

- Résistance à la rupture en flexion (en MPa)

$$\sigma_f = \frac{3 \times L}{2 \times b \times e^2} \times F_{\text{rupture}}, \text{ avec } F_{\text{rupture}} = \text{charge à la rupture, } L = \text{distance entre les}$$

points d'appui, b et e = largeur et épaisseur de l'éprouvette barre de flexion,

- Module d'élasticité en flexion (en MPa)

$$E_f = \frac{L^3}{4 \times b \times e^3} \times \frac{F_2 - F_1}{a_2 - a_1}, \text{ avec } F_1 \text{ et } F_2 = \text{force mesurée pour une déformation } a_1 \text{ et } a_2.$$

5.2.7. Mise en forme des granulats par thermopressage

Les plaques thermopressées sont préparées à l'aide d'une presse hydraulique de modèle OA274 (Pinette Emidecau Industries, Chalon sur Saône, France, Photographie 5- 5). Cet appareil permet d'exercer une pression pouvant atteindre 260 bars à une température maximale avoisinant les 300 °C.



Photographie 5- 5 : Thermopresse OA274

La mise en forme des plaques thermopressées s'effectue en plusieurs étapes. Tout d'abord, un moule de 15 cm x 15 cm est mis en température par conduction de ses plateaux vers le moule, puis le moule est rempli (environ 130 g de matière), avant fermeture, montée en pression puis maintien de la pression de consigne pendant un temps donné. La détente s'effectue doucement afin d'éviter qu'une forte baisse en température ne fragilise la plaque ainsi obtenue.

Les plaques sont sous forme de pavés et mesurent 15 cm de côté. Leur épaisseur varie selon les conditions opératoires qui sont la température du moule, la durée du temps de pressage et la granulométrie de la matière.

5.2.8. Fabrication de savon

Le savon est fabriqué à partir de matière grasse solide issue du fractionnement du co-produit de jambon sec broyé lot1 (MGSD).

La première étape consiste à préparer la solution de NaOH. On pèse 14 g d'eau et 6,8 g de soude, puis on verse la soude dans l'eau sous agitation et sous hotte aspirante.

On prépare également la phase huile, en pesant 50 g de matière grasse que l'on fait ensuite fondre à 60 °C, pendant 30 min.

La solution de soude est ajoutée au MGSD ($T = 60\text{ °C}$) sous agitation et sous hotte aspirante. On conserve le milieu sous agitation jusqu'à l'apparition de la trace (épaississement de la pâte). La trace est rapide, et apparaît après 5 min.

Une fois cette trace atteinte, le savon est coulé dans un moule, puis refroidi et séché pendant 24 h avant démoulage.

5.3. Techniques d'extraction et de concentration

5.3.1. Obtention de la colle d'os

La colle d'os, obtenue en conditions douces, suit le protocole décrit par le manuel de fabrication des colles (Malepeyre. F et al., 2010). La matière première employée est le GPM qui possède majoritairement protéines insolubles (de nature collagénique).

Cette matière première est introduite dans un bécher en présence d'eau déminéralisée (au ratio L/S de 7) et amenée à un pH alcalin à l'aide de soude. Après une extraction de 65

min à 60 °C, la matière solide est séparée par filtration (tissu en maille polyamide de 100 µm, Sefar Fyltis, Lyon). La phase aqueuse est ensuite concentrée sous vide jusqu'à ce qu'il ne reste qu'une pellicule brune/dorée de colle.

5.3.2. Obtention de la gélatine

La gélatine selon un procédé breveté (Christensson et al., 2006) est obtenue à partir du GPM broyé finement à l'aide d'un mortier et d'un pilon. Suite à quoi de l'eau distillée est ajoutée à un ratio L/S de 25 avant ajustement au pH 3. La température est ajustée à 100 °C durant 60 min, avant une décantation de 12 h qui permet de recueillir une phase liquide et une phase solide.

Cette phase solide est amenée à pH 6 afin que les sels de calcium, les matières grasses ou les protéines flocculent et puissent être retirées de la solution par filtration sous vide. Le filtrat obtenu est amené à pH 5, puis subit une nouvelle filtration sous vide afin de retirer les résidus solides. Le filtrat obtenu est ensuite laissé en étuve à 100 °C jusqu'à ce qu'il n'y ait plus qu'un dépôt blanc.

5.3.3. Mesure de la viscosité

Le comportement rhéologique des extraits en solution dans l'eau a été analysé grâce à un rhéomètre Carrimed CSL 100 équipé d'une géométrie de mesure de type cône. Le cône choisi possède un diamètre de 4 cm, un angle de 2 ° et un entrefer de 54 µm. L'ensemble est thermostaté à l'aide d'un dispositif à effet Peltier située dans le plan. Les analyses sont réalisées sous plusieurs conditions :

- les expériences oscillatoires sont effectuées afin de déterminer la viscosité d'extraits en solution à 2 % et 25 % en matière sèche de protéines. La fréquence d'oscillation est de 1 Hz. La température augmente de 20 à 80 °C en suivant une rampe de +2 °C/min (Selmane et al., 2008).

- les expériences d'écoulement sont réalisées à température fixe, à savoir 30, 40 ou 50 °C, pour des extraits en solution à 5, 10 et 25 %. Sous chaque contrainte imposée, la déformation de l'échantillon et l'écoulement sont mesurés à l'équilibre. Le domaine de variation exploré est de 0 à 5 N/m². La viscosité a été calculée comme la pente de la droite décrivant l'évolution du gradient en fonction de la contrainte.

5.3.4. Casting

Le casting consiste à introduire de la FPS lyophilisée à plusieurs concentrations dans de l'eau distillée (1, 2, 3, 4, 5 et 10 %) pour former des films homogènes sur des surfaces planes (boîtes de Pétri), et à observer l'état des gels formés après évaporation de l'eau à température ambiante. Cette méthode permet également d'observer la tenue du gel (continuité du gel ou apparition de craquelures).

5.3.5. Milieu de culture

Le milieu de culture employé pour le développement des levures et champignons est préparé à partir de FPS lyophilisée à raison de 20 g par litre auxquels sont ajoutés 5 g de glucose. A titre comparatif, des peptones SIGMA n° P5905 sont utilisées en remplacement de la FPS lyophilisée.

Les milieux sont stérilisés à 115 °C durant 25 minutes puis refroidis avant l'ensemencement des souches de levures et de champignons.

5.3.6. Lyophilisation

La lyophilisation est un procédé qui permet de retirer l'eau contenue dans un produit afin de garantir sa stabilité et d'augmenter sa durée de conservation. Elle est effectuée à l'aide d'un appareil de type Cryo Bolt 27 (Cryonext, Saint Gély du Fesc, France, Photographie 4-7).



Photographie 5- 6 : Lyophilisateur Cryo Blot 27

La lyophilisation se déroule en plusieurs étapes :

- Congélation : la température du produit baisse entre -20 °C et -80 °C (-40 °C dans le programme utilisé), de manière à ce que l'eau se retrouve sous forme de glace, sans altérer le produit à lyophiliser.
- Sublimation : sous un vide situé aux environs de 100 bar, l'eau libre, sous forme de glace, est extraite par de la chaleur apportée par conduction (au travers des étagères qui contiennent le fluide caloporteur). La vapeur d'eau est captée par un piège froid tout au long de la déshydratation.

5.3.7. Extrusion

L'extrudeuse bi-vis, fabriqué par la société Clextral (Firminy, France), est de type BC 45 (Figure 5- 2). Il s'agit d'une extrudeuse à vis co-rotatives, co-pénétrantes et auto nettoyantes, qui favorise l'écoulement régulier de la matière dans le fourreau.

Le fourreau est constitué de 7 modules de 20 cm reliés entre eux par des colliers. Ces modules peuvent être ouverts, fermés ou munis de grilles permettant la filtration. Les grilles, de forme semi-cylindriques, sont montées sous les modules et sont percées de trous coniques (au diamètre allant de 1 mm à 2 mm). Les modules sont équipés d'une circulation d'eau de refroidissement et peuvent être chauffés par induction. Les températures des différents modules sont contrôlées et régulées.

Les vis sont entraînées par un moteur à vitesse variable, alimenté par un courant dont l'intensité est mesurée en continu.



Figure 5- 2 : L'extrudeuse Cleextral BC45

5.4. Techniques d'observation

5.4.1. Loupe binoculaire

Les échantillons solides (os sec, tendon, cartilage) sont observés à l'aide d'une loupe binoculaire NIKON SMZ 1500 équipée de la caméra numérique NIKON DMX 1200, elle-même reliée à un ordinateur. Le logiciel Lucia G (version 5.3) permet de traiter les clichés.

5.4.2. Microscopie optique des phases liquides

Les échantillons liquides sont observés entre lame et lamelle à l'aide du microscope optique Nikon Eclipse E 600 muni d'oculaires grossissants $\times 10$ et d'un objectif $\times 100$ (objectif à immersion dans l'huile). Le microscope est équipé de la caméra numérique Nikon DMX 1200, elle-même reliée à un ordinateur. Le logiciel Lucia G (version 5.3) permet la récupération des clichés.

5.4.3. Microscope électronique à balayage des solides

L'observation des solides se fait à l'aide du microscope électronique à balayage LEO 435 VP en mode pression contrôlée, 15 kV, les images sont enregistrées avec le logiciel LEO32. Avant toute observation, les échantillons sont préalablement déshydratés (deux à trois jours à 60 °C, sous vide et en présence de P_2O_5). Puis, ils sont métallisés à l'argent, sous plasma d'argon (métallisation sputtering). Dans notre cas, le caractère spongieux de l'os n'a pas permis d'effectuer cette métallisation.

5.5. Dépouillement du plan d'expériences

Les conditions opératoires réelles des points expérimentaux du plan d'expérience sont indiquées dans le Tableau 3- 12.

5.5.1. Rendement en matière sèche extraite RMSE

Source de variation	Somme des carrés	Degrés de liberté	Carré moyen	Rapport	Signif
Régression	9,26751E+0002	9	1,02972E+0002	2,4739	12,3
Résidus	2,91367E+0002	7	4,16238E+0001		
Total	1,21812E+0003	16			

Tableau 5- 9 : Analyse de la variance pour le rendement en matière sèche extraite R_{MSE}

Nom	Coefficient	F,Inflation	Ecart-Type	t,exp,	Signif, %
b0	52,3		3,7	14,24	< 0,01 ***
b1	2,7	1,00	1,7	1,55	16,6
b2	3,8	1,03	1,8	2,09	7,5
b3	-2,1	1,00	1,7	-1,21	26,6
b11	-3,8	1,13	1,9	-1,99	8,7
b22	-6,5	1,14	2,2	-3,04	1,89 *
b33	-3,0	1,13	1,9	-1,57	16,1
b12	-0,9	1,00	2,3	-0,38	71,3
b13	1,5	1,00	2,3	0,66	53,2
b23	0,9	1,00	2,3	0,38	71,3

Tableau 5- 10 : Estimations et statistiques des coefficients pour le rendement en matière sèche extraite R_{MSE}

N°Exp	Y _{exp} ,	Y _{calc} ,	Différence	Normée	dU	Student-R	R-Student	D-Cook
1	39,0	36,1	2,9	0,447	0,670	0,8	0,8	0,1
2	37,0	40,3	-3,3	-0,507	0,670	-0,9	-0,9	0,2
3	45,0	43,8	1,2	0,193	0,692	0,3	0,3	0,0
4	38,0	44,4	-6,4	-0,993	0,692	-1,8	-2,2	0,7
5	32,0	27,1	4,9	0,752	0,670	1,3	1,4	0,3
6	34,5	37,3	-2,8	-0,434	0,670	-0,8	-0,7	0,1
7	40,0	38,3	1,7	0,266	0,692	0,5	0,5	0,1
8	40,5	44,9	-4,4	-0,688	0,692	-1,2	-1,3	0,3
9	30,0	37,1	-7,1	-1,102	0,616	-1,8	-2,2	0,5
10	55,5	46,2	9,3	1,442	0,616	2,3	4,5	0,9
11	26,0	27,4	-1,4	-0,214	0,645	-0,4	-0,3	0,0
12	50,0	44,8	5,2	0,800	0,472	1,1	1,1	0,1
13	50,0	47,5	2,5	0,395	0,616	0,6	0,6	0,1
14	40,0	40,4	-0,4	-0,055	0,616	-0,1	-0,1	0,0
15	50,5	52,3	-1,8	-0,282	0,324	-0,3	-0,3	0,0
16	52,5	52,3	0,2	0,028	0,324	0,0	0,0	0,0
17	52,0	52,3	-0,3	-0,050	0,324	-0,1	-0,1	0,0

Tableau 5- 11 : Tableau des résidus pour le rendement en matière sèche extraite R_{MSE}

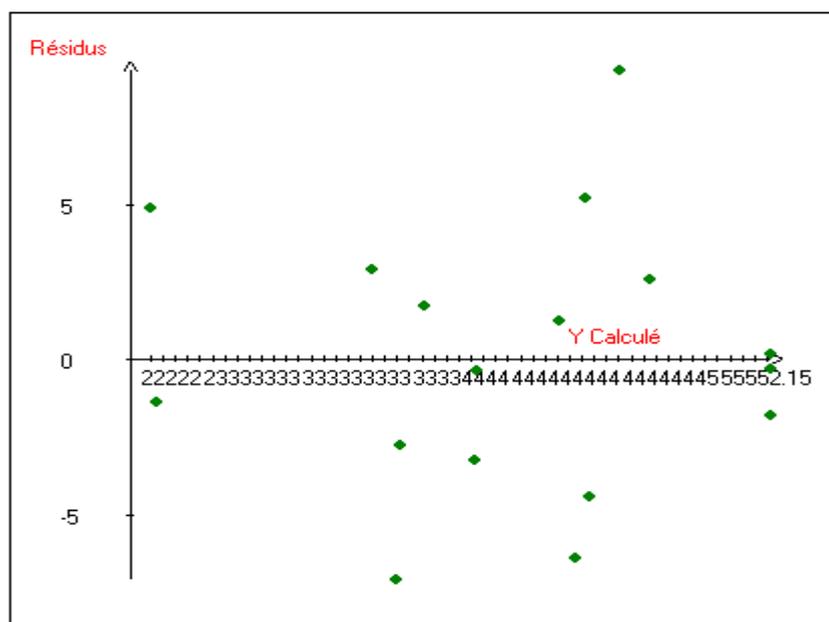


Figure 5- 3 : Etude des résidus de la réponse R_{MSE}

5.5.2. Rendement en matière sèche extraite RMGSD

Source de variation	Somme des carrés	Degrés de liberté	Carré moyen	Rapport	Signif
Régression	1,07037E+0003	9	1,18929E+0002	1,3881	34,0
Résidus	5,99749E+0002	7	8,56784E+0001		
Total	1,67012E+0003	16			

Tableau 5- 12 : Analyse de la variance pour le rendement en matière sèche extraite R_{MGSD}

Nom	Coefficient	F, Inflation	Ecart-Type	t, exp,	Signif, %
b0	32,1		5,3	6,09	0,0494 ***
b1	1,1	1,00	2,5	0,46	66,1
b2	5,1	1,03	2,6	1,95	9,2
b3	-2,6	1,00	2,5	-1,05	33,0
b11	-3,9	1,13	2,7	-1,43	19,6
b22	-5,6	1,14	3,1	-1,82	11,1
b33	-4,1	1,13	2,7	-1,49	17,9
b12	-0,7	1,00	3,3	-0,23	82,5
b13	1,7	1,00	3,3	0,53	60,9
b23	-3,0	1,00	3,3	-0,92	39,0

Tableau 5- 13 : Estimations et statistiques des coefficients pour le rendement en matière sèche extraite R_{MGSD}

N°Exp	Y _{exp,}	Y _{calc,}	Différence	Normée	dU	Student-R	R-Student	D-Cook
1	8,0	12,9	-4,9	-0,530	0,670	-0,9	-0,9	0,2
2	9,0	13,2	-4,2	-0,453	0,670	-0,8	-0,8	0,1
3	39,0	30,6	8,4	0,905	0,692	1,6	1,9	0,6
4	22,0	27,9	-5,9	-0,638	0,692	-1,2	-1,2	0,3
5	12,0	10,2	1,8	0,198	0,670	0,3	0,3	0,0
6	5,0	17,5	-12,5	-1,346	0,670	-2,3	-4,7	1,1
7	16,0	15,9	0,1	0,013	0,692	0,0	0,0	0,0
8	21,0	20,2	0,8	0,090	0,692	0,2	0,1	0,0
9	14,0	19,2	-5,2	-0,561	0,616	-0,9	-0,9	0,1
10	34,0	23,0	11,0	1,184	0,616	1,9	2,6	0,6
11	17,0	7,6	9,4	1,015	0,645	1,7	2,1	0,5
12	23,0	28,2	-5,2	-0,566	0,472	-0,8	-0,8	0,1
13	27,0	25,0	2,0	0,213	0,616	0,3	0,3	0,0
14	20,0	16,2	3,8	0,409	0,616	0,7	0,6	0,1
15	30,0	32,1	-2,1	-0,230	0,324	-0,3	-0,3	0,0
16	35,0	32,1	2,9	0,311	0,324	0,4	0,4	0,0
17	32,0	32,1	-0,1	-0,013	0,324	-0,0	-0,0	0,0

Tableau 5- 14 : Tableau des résidus pour le rendement en matière sèche extraite R_{MGSD}

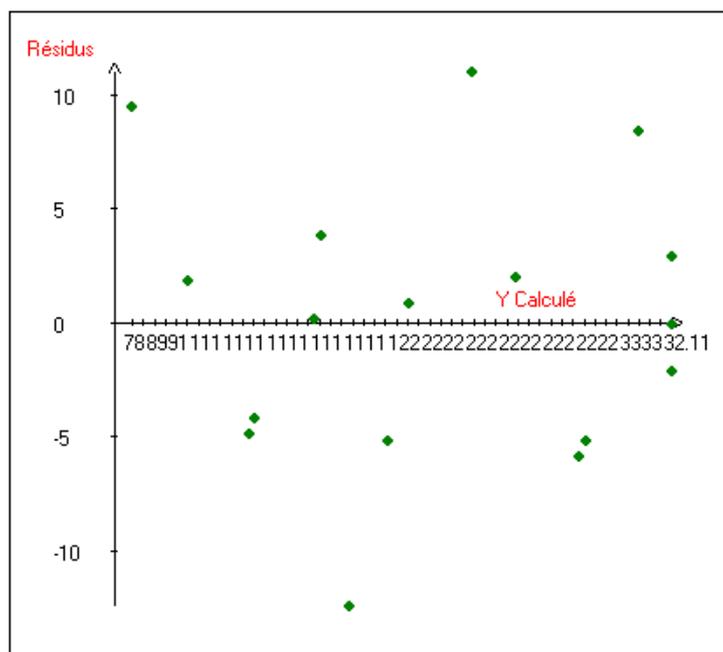


Figure 5- 4 : Etude des résidus de la réponse R_{MGSD}

5.5.3. Rendement en matière sèche extraite R_{MSSF}

Source de variation	Somme des carrés	Degrés de liberté	Carré moyen	Rapport	Signif
Régression	523,7074	9	58,1897	1,0449	48,8
Résidus	389,8220	7	55,6889		
Total	913,5294	16			

Tableau 5- 15 : Analyse de la variance pour le rendement en matière sèche extraite R_{MSSF}

Nom	Coefficient	F, Inflation	Ecart-Type	t, exp,	Signif, %
b0	22,0		4,3	5,18	0,129 **
b1	1,9	1,00	2,0	0,95	37,3
b2	-0,1	1,03	2,1	-0,05	96,5
b3	-0,3	1,00	2,0	-0,14	89,0
b11	-1,0	1,13	2,2	-0,47	65,0
b22	-1,0	1,14	2,5	-0,40	70,0
b33	-1,4	1,13	2,2	-0,63	54,6
b12	-0,9	1,00	2,6	-0,33	75,0
b13	-0,4	1,00	2,6	-0,14	89,1
b23	7,4	1,00	2,6	2,80	2,67 *

Tableau 5- 16 : Estimations et statistiques des coefficients pour le rendement en matière sèche extraite R_{MSSF}

N°Exp	Yexp,	Ycalc,	Différence	Normée	dU	Student-R	R-Student	D-Cook
1	33,0	23,2	9,8	1,319	0,670	2,3	4,3	1,1
2	31,0	29,5	1,5	0,201	0,670	0,4	0,3	0,0
3	9,0	10,0	-1,0	-0,129	0,692	-0,2	-0,2	0,0
4	13,0	12,8	0,2	0,026	0,692	0,0	0,0	0,0
5	12,0	8,6	3,4	0,459	0,670	0,8	0,8	0,1
6	18,0	13,4	4,6	0,614	0,670	1,1	1,1	0,2
7	27,0	24,9	2,1	0,283	0,692	0,5	0,5	0,1
8	20,0	26,2	-6,2	-0,834	0,692	-1,5	-1,7	0,5
9	9,0	15,8	-6,8	-0,915	0,616	-1,5	-1,6	0,3
10	24,0	22,3	1,7	0,230	0,616	0,4	0,3	0,0
11	10,0	19,3	-9,3	-1,251	0,645	-2,1	-3,2	0,8
12	26,0	19,9	6,1	0,817	0,472	1,1	1,1	0,1
13	14,0	18,5	-4,5	-0,609	0,616	-1,0	-1,0	0,2
14	17,0	17,6	-0,6	-0,076	0,616	-0,1	-0,1	0,0
15	25,0	22,0	3,0	0,402	0,324	0,5	0,5	0,0
16	19,0	22,0	-3,0	-0,402	0,324	-0,5	-0,5	0,0
17	21,0	22,0	-1,0	-0,134	0,324	-0,2	-0,2	0,0

Tableau 5- 17 : Tableau des résidus pour le rendement en matière sèche extraite R_{MSSF}

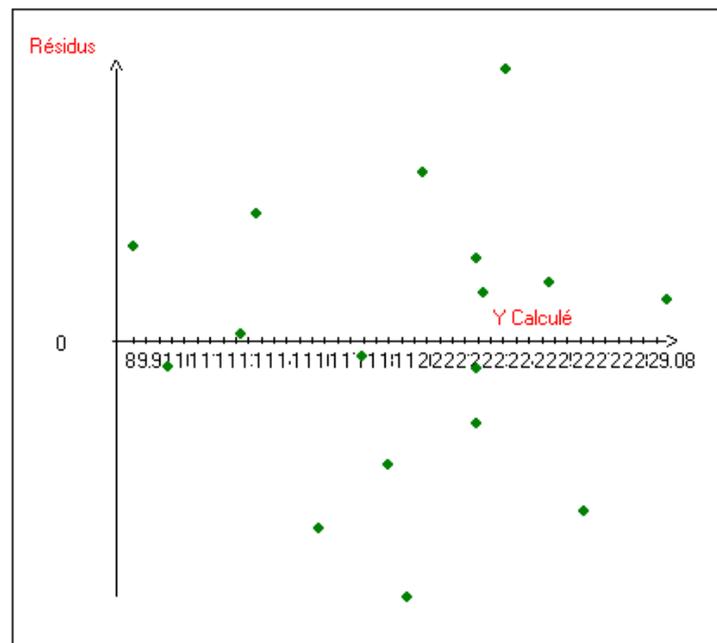


Figure 5- 5 : Etude des résidus de la réponse R_{MSSF}

5.5.4. Rendement en matière sèche extraite RL

Source de variation	Somme des carrés	Degrés de liberté	Carré moyen	Rapport	Signif
Régression	637,1702	9	70,7967	1,8235	22,0
Résidus	271,7710	7	38,8244		
Total	908,9412	16			

Tableau 5- 18 : Analyse de la variance pour le rendement en matière sèche extraite RL

Nom	Coefficient	F,Inflation	Ecart-Type	t,exp,	Signif, %
b0	26,4		3,5	7,43	0,0146 ***
b1	1,2	1,00	1,7	0,73	48,9
b2	4,3	1,03	1,8	2,44	4,51 *
b3	-0,9	1,00	1,7	-0,53	61,6
b11	-4,0	1,13	1,8	-2,18	6,5
b22	-4,3	1,14	2,1	-2,06	7,8
b33	-2,2	1,13	1,8	-1,22	26,2
b12	1,7	1,00	2,2	0,79	45,3
b13	0,5	1,00	2,2	0,23	82,7
b23	-0,5	1,00	2,2	-0,23	82,7

Tableau 5- 19 : Estimations et statistiques des coefficients pour le rendement en matière sèche extraite RL

N°Exp	Yexp,	Ycalc,	Différence	Normée	dU	Student-R	R-Student	D-Cook
1	7,0	12,9	-5,9	-0,955	0,670	-1,7	-2,0	0,6
2	7,0	10,9	-3,9	-0,628	0,670	-1,1	-1,1	0,2
3	22,0	19,0	3,0	0,474	0,692	0,9	0,8	0,2
4	20,0	24,0	-4,0	-0,643	0,692	-1,2	-1,2	0,3
5	11,0	11,2	-0,2	-0,028	0,670	-0,0	-0,0	0,0
6	4,0	11,1	-7,1	-1,146	0,670	-2,0	-2,8	0,8
7	15,0	15,3	-0,3	-0,044	0,692	-0,1	-0,1	0,0
8	24,0	22,2	1,8	0,283	0,692	0,5	0,5	0,1
9	13,0	13,0	0,0	0,005	0,616	0,0	0,0	0,0
10	23,0	17,1	5,9	0,945	0,616	1,5	1,7	0,4
11	15,0	7,0	8,0	1,282	0,645	2,2	3,4	0,8
12	21,0	24,0	-3,0	-0,479	0,472	-0,7	-0,6	0,0
13	26,0	21,5	4,5	0,717	0,616	1,2	1,2	0,2
14	20,0	18,6	1,4	0,232	0,616	0,4	0,4	0,0
15	29,0	26,4	2,6	0,423	0,324	0,5	0,5	0,0
16	26,0	26,4	-0,4	-0,059	0,324	-0,1	-0,1	0,0
17	24,0	26,4	-2,4	-0,380	0,324	-0,5	-0,4	0,0

Tableau 5- 20 : Tableau des résidus pour le rendement en matière sèche extraite RL

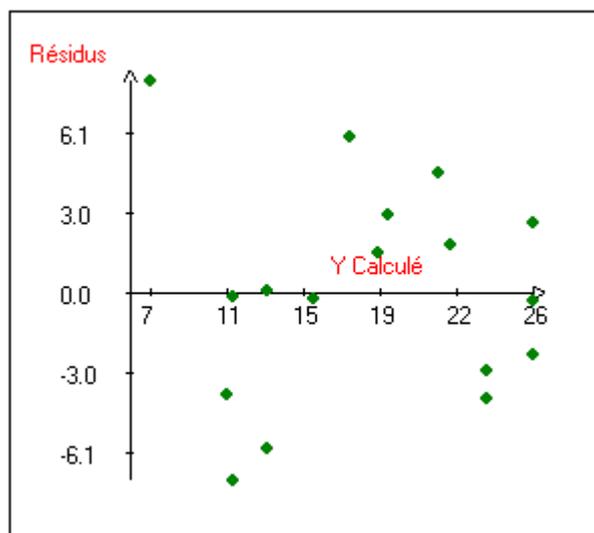


Figure 5- 6 : Etude des résidus de la réponse R_L

5.5.5. Rendement en matière sèche extraite R_P

Source de variation	Somme des carrés	Degrés de liberté	Carré moyen	Rapport	Signif
Régression	112,9857	9	12,5540	1,5847	27,8
Résidus	55,4554	7	7,9222		
Total	168,4412	16			

Tableau 5- 21 : Analyse de la variance pour le rendement en matière sèche extraite R_P

Nom	Coefficient	F, Inflation	Ecart-Type	t, exp,	Signif, %
b0	10,4		1,6	6,47	0,0344 ***
b1	1,6	1,00	0,8	2,13	7,1
b2	0,0	1,03	0,8	0,05	96,3
b3	1,0	1,00	0,8	1,33	22,4
b11	-0,4	1,13	0,8	-0,50	63,4
b22	-1,7	1,14	0,9	-1,80	11,5
b33	-1,0	1,13	0,8	-1,24	25,3
b12	-1,4	1,00	1,0	-1,44	19,2
b13	0,3	1,00	1,0	0,31	76,3
b23	1,3	1,00	1,0	1,32	22,9

Tableau 5- 22 : Estimations et statistiques des coefficients pour le rendement en matière sèche extraite R_P

N°Exp	Y _{exp} ,	Y _{calc} ,	Différence	Normée	dU	Student-R	R-Student	D-Cook
1	8,0	4,8	3,2	1,154	0,670	2,0	2,9	0,8
2	8,0	10,2	-2,2	-0,798	0,670	-1,4	-1,5	0,4
3	4,0	5,1	-1,1	-0,383	0,692	-0,7	-0,7	0,1
4	5,0	4,8	0,2	0,063	0,692	0,1	0,1	0,0
5	4,0	3,5	0,5	0,167	0,670	0,3	0,3	0,0
6	12,0	10,3	1,7	0,612	0,670	1,1	1,1	0,2
7	12,0	9,1	2,9	1,027	0,692	1,9	2,4	0,8
8	7,5	10,1	-2,6	-0,925	0,692	-1,7	-2,0	0,6
9	3,5	6,5	-3,0	-1,058	0,616	-1,7	-2,1	0,5
10	14,0	11,9	2,1	0,733	0,616	1,2	1,2	0,2
11	4,0	5,5	-1,5	-0,542	0,645	-0,9	-0,9	0,2
12	8,0	7,1	0,9	0,315	0,472	0,4	0,4	0,0
13	6,0	5,7	0,3	0,089	0,616	0,1	0,1	0,0
14	8,0	9,2	-1,2	-0,413	0,616	-0,7	-0,6	0,1
15	9,0	10,4	-1,4	-0,487	0,324	-0,6	-0,6	0,0
16	11,0	10,4	0,6	0,223	0,324	0,3	0,3	0,0
17	11,0	10,4	0,6	0,223	0,324	0,3	0,3	0,0

Tableau 5- 23 : Tableau des résidus pour le rendement en matière sèche extraite R_p

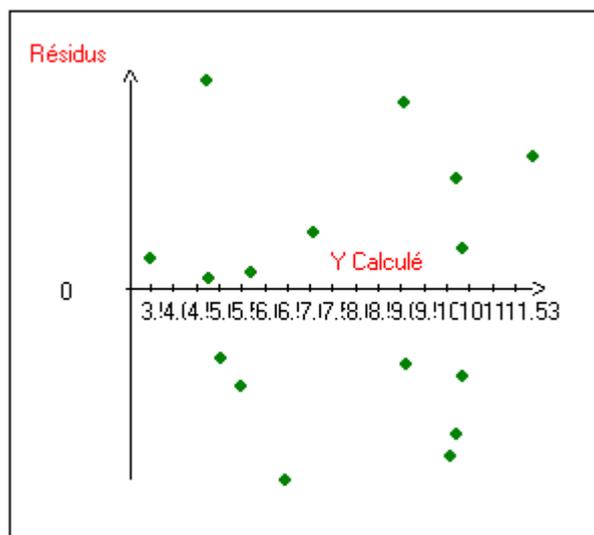


Figure 5- 7 : Etude des résidus de la réponse R_p

5.5.6. Rendement en matière sèche extraite RGAG

Source de variation	Somme des carrés	Degrés de liberté	Carré moyen	Rapport	Signif
Régression	20,2256	9	2,2473	0,9195	55,7
Résidus	17,1089	7	2,4441		
Total	37,3344	16			

Tableau 5- 24 : Analyse de la variance pour le rendement en matière sèche extraite R_{GAG}

Nom	Coefficient	F,Inflation	Ecart-Type	t,exp,	Signif, %
b0	1,841		0,890	2,07	7,8
b1	0,362	1,00	0,423	0,86	42,1
b2	0,259	1,03	0,443	0,59	57,7
b3	-0,221	1,00	0,423	-0,52	61,7
b11	0,002	1,13	0,460	0,00	99,7
b22	0,125	1,14	0,522	0,24	81,8
b33	0,041	1,13	0,460	0,09	93,2
b12	1,274	1,00	0,553	2,30	5,5
b13	-0,639	1,00	0,553	-1,16	28,6
b23	0,279	1,00	0,553	0,50	63,0

Tableau 5- 25 : Estimations et statistiques des coefficients pour le rendement en matière sèche extraite R_{GAG}

N°Exp	Y _{exp,}	Y _{calc,}	Différence	Normée	dU	Student-R	R-Student	D-Cook
1	1,580	2,522	-0,942	-0,603	0,670	-1,049	-1,058	0,223
2	2,410	1,976	0,434	0,278	0,670	0,483	0,455	0,047
3	0,010	-0,064	0,074	0,047	0,692	0,085	0,079	0,002
4	5,450	4,484	0,966	0,618	0,692	1,113	1,136	0,279
5	2,720	2,800	-0,080	-0,051	0,670	-0,089	-0,082	0,002
6	0,510	-0,302	0,812	0,519	0,670	0,904	0,890	0,166
7	1,780	1,328	0,452	0,289	0,692	0,521	0,492	0,061
8	5,150	3,322	1,828	1,170	0,692	2,108	3,229	0,999
9	1,960	1,238	0,722	0,462	0,616	0,745	0,719	0,089
10	0,480	2,455	-1,975	-1,263	0,616	-2,037	-2,957	0,665
11	1,910	1,758	0,152	0,098	0,645	0,164	0,152	0,005
12	0,420	2,448	-2,028	-1,297	0,472	-1,786	-2,241	0,286
13	2,440	2,329	0,111	0,071	0,616	0,115	0,106	0,002
14	0,220	1,584	-1,364	-0,872	0,616	-1,407	-1,538	0,317
15	1,910	1,841	0,069	0,044	0,324	0,054	0,050	0,000
16	1,950	1,841	0,109	0,070	0,324	0,085	0,079	0,000
17	2,500	1,841	0,659	0,422	0,324	0,513	0,484	0,013

Tableau 5- 26 : Tableau des résidus pour le rendement en matière sèche extraite R_{GAG}

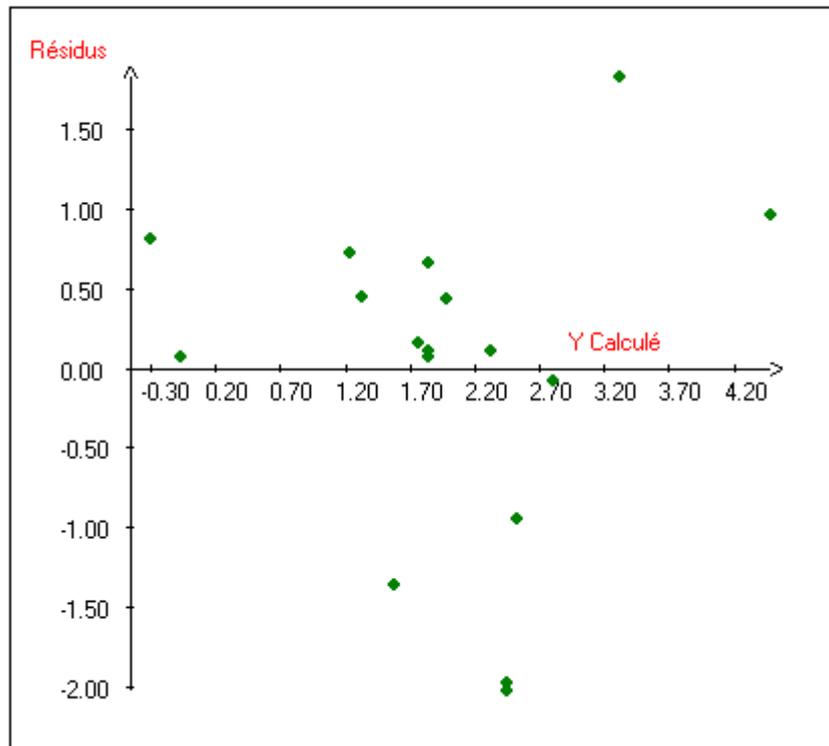


Figure 5- 8 : Etude des résidus de la réponse R_{GAG}

Références bibliographiques

- Abbassian, A.** FAO : perspectives de l'alimentation.(2010)
- Adams, W. M.** The Future of Sustainability: Re-thinking Environment and Development in the Twenty-first Century. Report of the IUCN Renowned Thinkers Meeting: 29-31.(2006)
- ADEME** Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie <http://www2.ademe.fr/servlet/KBaseShow?sort=-1&cid=96&m=3&catid=15555>. (30 août 2010)
- ADEME** Analyses de Cycle de Vie appliquées aux biocarburants de première génération consommés en France - rapport final.(2010)
- Agreste** Les productions animales. Ministère de l'agriculture.(2010)
- Agreste** Tableaux : résultats nationaux sur les matières premières de l'alimentation animale Chiffres et Données Agroalimentaire **155**: 10.(2006)
- Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. and Watson., J. D.** Molecular Biology of the Cell. New York (1983)
- American Meat Institute Committee** By-products of the meat packing industry. Institute of Meat Packing, University of Chicago. Chicago.(1958)
- Amitrano, R. and Tortora, G. J.** Laboratory Exercises in Anatomy and Physiology with Cat Dissections. Thomson Learning. Belmont. 702.(2006)
- Anastas, P. T. and Kirchoff, M. M.** Origins, Current Status, and Future Challenges of Green Chemistry. Accounts of Chemical Research **35**(9): 686-694.(2002)
- Applebaum, S. L. and Rønnestad, I.** Absorption, assimilation and catabolism of individual free amino acids by larval Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). Aquaculture **230**(1-4): 313-322.(2004)
- Arrêté du 21 novembre 2001** Arrêté du 8 novembre 2001 modifiant l'arrêté du 15 juin 2001 relatif aux conditions sanitaires régissant la commercialisation, les échanges, les importations et les exportations de certains produits d'origine animale destinés à l'alimentation et à la fabrication d'aliments pour animaux de compagnie. **270** 18514
- Arrêté du 30 janvier 2008** Arrêté du 30 janvier 2008 modifiant l'arrêté du 18 juillet 2006 portant interdiction de l'emploi de certaines protéines, phosphates et graisses d'origine animale dans l'alimentation et la fabrication d'aliments des animaux d'élevage et fixant des conditions supplémentaires aux échanges, aux importations et aux exportations de certains produits d'origine animale destinés à l'alimentation et à la fabrication d'aliments des animaux d'élevage. **33**: 2116
- Azuma, C., Tohno, S., Mahakkanukrauh, P., Tohno, Y., Ongkana, N., Minami, T., Moriwake, Y., Kumai, T., Vaidhayakarn, P., Yamada, M.-O. and Maruyama, H.** Age-dependent increases of calcium and phosphorus in human epiglottal cartilage. Biological Trace Element Research **105**(1): 59-70.(2005)
- Babel, W., Schulz, D., Giesen-Wiese, M., Seybold, U., Gareis, H., Dick, E., Schrieber, R., Schott, A. and Stein, W.** Gelatin. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.(2000)
- Bailey, A. J. and Light, N. D.** Connective Tissue in Meat and Meat Products. Elsevier Applied Science. London (1989)
- Barbieri, G., Bolzoni, L., Parolari, G., Virgili, R., Buttini, R., Careri, M. and Mangia, A.** Flavor compounds of dry-cured ham. Journal of agricultural and food chemistry **40**(12): 2389-2394.(1992)

- Benhayoune, H, Charlier, D, Jallot, E, Laquerriere, P, Balossier, G, Bonhomme and P** Evaluation of the Ca/P concentration ratio in hydroxyapatite by STEM-EDXS : influence of the electron irradiation dose and temperature processing. Institute of Physics. Bristol, Royaume-Uni. **34**.(2001)
- Berdagué, J.-L., Denoyer, C., Le Quere, J.-L. and Semon, E.** Volatile components of dry-cured ham. Journal of agricultural and food chemistry **39**(7): 1257-1261.(1991)
- Berge, O. and Hovland, E.** Apparatus for the production of fodder and fat from animal raw materials. **US 4593614**: 8.(1985)
- Berrios, M., Gutierrez, M. C., Martin, M. A. and Martin, A.** Application of the factorial design of experiments to biodiesel production from lard. Fuel Processing Technology **90**(12): 1447-1451.(2009)
- Bessis, M. and Breton-Gorius, J.** Iron Metabolism in the Bone Marrow as Seen by Electron Microscopy: A Critical Review Blood **19**(6): 635-663.(1962)
- Blortz, D., Bohrmann, H., Maier, D. and Müller, R.** Process for preparing a protein hydrolysate from portein-containing animal products. **EP 0823998 A2**: 9.(1997)
- Bodwell, C. E., Hepner, P. A., Brooks, B. and Hagan, S.** Comparative studies of myosins isolated from beef, pork, and rabbit muscles. International Journal of Biochemistry **2**(12): 682-686.(1971)
- Boles, J. A., Rathgeber, B. M. and Shand, P. J.** Recovery of proteins from beef bone and the functionality of these proteins in sausage batters. Meat Science **55**(2): 223-231.(2000)
- Boloh, Y.** Alimentation animale, 15 ans de crise Entretien avec le SNIA1 : Un impact d'image et l'accroissement des contraintes réglementaires. Dossier de l'environnement de l'INRA n°28: 77-80.(2004)
- Boran, G., Mulvaney, S. J. and Regenstein, J. M.** Rheological Properties of Gelatin from Silver Carp Skin Compared to Commercially Available Gelatins from Different Sources. Journal of Food Science **75**(8): E565-E571.(2010)
- Brown, J. C. and Timpl, R.** The collagen superfamily. Karger. Basel, Suisse. **107**.(1995)
- Buckley, M., Collins, M. and Thomas-Oates, J.** A method of isolating the collagen (I) a2 chain carboxyteleopeptide for species identification in bone fragments. Analytical Biochemistry **374**(2): 325-334.(2008)
- Calhoun, C. M., D, S. T. and W., M. R.** Porcine Bone Marrow : extraction procedure and characterization by bone type. Meat Science **50**(4): 489-497.(1998)
- Calkins, C. R. and Hodgen, J. M.** A fresh look at meat flavor. Meat Science **77**(1): 63-80.(2007)
- Campo, R. D. and Tourtellotte, C. D.** The composition of bovine cartilage and bone. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects **141**(3): 614-624.(1967)
- Canoir, L., Rodriguez-Gamero, M., Querol, E., Alcantara, R., Lapuerta, M. and Oliva, F.** Biodiesel from Low-Grade Animal Fat: Production Process Assessment and Biodiesel Properties Characterization. Industrial & Engineering Chemistry Research: ACS ASAP.(2008)
- Carsten, M. E.** Actin, Its Amino Acid Composition and Its Reaction with Iodoacetate. Biochemistry **2**(1): 32-34.(1963)
- CATAR** Valorisation des écarts osseux de la production de jambon : caractérisation et évaluation du fractionnement. **16**.(2007)
- Cerny, C.** Savory Flavors.Handbook of Meat, Poultry and Seafood Quality Blackwell Publishing. 163-182.(2007)
- Cheret, R.** Effet des hautes pressions sur les indicateurs de maturation de la viande et d'altération du muscle de poisson. *Thèse de Doctorat* ENITIAA Nantes 197.(2005)

Christensson, K., Levin, S., Jansson, M. and Andreasson, M. Method for producing and purifying gelatin. **WO 2006/004473 A1**.(2006)

Chu, M.-L., de Wet, W., Bernard, M., Ding, J.-F., Morabito, M., Myers, J., Williams, C. and Ramirez, F. Human pro[alpha]1(I) collagen gene structure reveals evolutionary conservation of a pattern of introns and exons. Nature **310**(5975): 337-340.(1984)

Coulon, J. B., Geay, Y., Micol, D. and Liénard, G., 1996. Alimentation et systèmes de conduite des bovins. . Note interne INRA.(1996)

Coutand, M., Cyr, M., Deydier, E., Guilet, R. and Clastres, P. Characteristics of industrial and laboratory meat and bone meal ashes and their potential applications. Journal of Hazardous Materials **150**: 522-532.(2007)

Cuq, B., Gontard, N. and Guilbert, S. Proteins as agricultural polymers for packaging production. Cereal Chemistry **75**(1): 1-9.(1998)

Cuq, B., Gontard, N. and Guilbert, S. Thermoplastic properties of fish myofibrillar proteins: application to biopackaging fabrication. Polymer **38**(16): 4071-4078.(1997)

De Wolf, F. A. Chapter V Collagen and gelatin. Progress in Biotechnology Elsevier. Volume 23: 133-218.(2003)

Deal, C. L. and Moskowitz, R. W. Nutraceuticals as therapeutic agents in osteoarthritis : The Role of Glucosamine, Chondroitin Sulfate, and Collagen Hydrolysate. Rheumatic diseases clinics of North America **25**(2): 379-395.(1999)

Décret 2008-184 du 26 février 2008 Décret 2008-184 du 26 février 2008 portant application du code de la consommation en ce qui concerne les graisses et huiles comestibles.

Deriot, G. and Bizet, J. Rapport de la commission d'enquête sur les conditions d'utilisation des farines animales dans l'alimentation des animaux d'élevage et les conséquences qui en résultent pour la santé des consommateurs, créée en vertu d'une résolution adoptée par le Sénat le 21 novembre 2000,. Journal officiel du 11 mai 2001.(2001)

Deydier, E., Guilet, R., Sarda, S. and Sharrock, P. Physical and chemical characterization of crude meat and bone meal combustion residue : waste or raw material? Journal of Hazardous Materials **B121**: 141-148.(2005)

Di Costanzo-Dufetel, J., Romette, J., Charrel, M. and Di Costanzo, J. Les fibronectines. Nutrition Clinique et Métabolisme **6**(3): 131-148.(1992)

Doherr, M. G. Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE) – Infectious, Contagious, Zoonotic or Production Disease? Acta vet. scand. Suppl.98: 33-42.(2003)

Dubois, M. Collagène. Actifs et additifs en cosmétologie (2e édition) Tec&Doc. Paris. 91-116.(1999)

Dukes, H. H. The physiology of Domestic Animals. Comstock, Ithaca. New York.(1943)

Dunning, D. Basic mammalian bone anatomy and healing. The veterinary clinics of North America. Exotic animal practice **5**(1): 115-128.(2002)

Ellis, R. E. The Distribution of Active Bone Marrow in the Adult. Physics in Medicine and Biology **5**(3): 255.(1961)

Encyclopaedia Britannica Encyclopædia Britannica Online. <http://www.britannica.com/EBchecked/topic/129490/compact-bone>. (15 avril 2011)

Evon, P. Nouveau procédé de bioraffinage du tournesol plante entière par fractionnement thermo-mécano-chimique en extrudeur bi-vis : étude de l'extraction aqueuse des lipides et de la mise en forme du raffinat en agromatériaux par thermomoulage *Thèse de Doctorat INP, Toulouse*.(2008)

Evon, P., Vandenbossche, V., Pontalier, P. Y. and Rigal, L. Direct extraction of oil from sunflower seeds by twin-screw extruder according to an aqueous extraction process: Feasibility study and influence of operating conditions. Industrial Crops and Products **26**(3): 351-359.(2007)

Faye, M. Nouveau procédé de fractionnement de la graine de neem (*Azadirachta Indica* A. Juss) sénégalais : production d'un bio-pesticide, d'huile et de tourteau. *Thèse de Doctorat* INP Toulouse.(2011)

FICT Fédération Française des Industriels Charcutiers Traiteurs : Actualités - Spécial résultats définitifs 2010.(2011)

Findlay, C. J., Parkin, K. L. and Stanley, D. W. Differential scanning calorimetry can determine kinetics of thermal denaturation of beef muscle proteins. Journal of Food Biochemistry **10**(1): 1-15.(1986)

Flores, M., Gianelli, M. P., Pérez-Juan, M. and Toldrá, F. Headspace concentration of selected dry-cured aroma compounds in model systems as affected by curing agents. Food Chemistry **102**(2): 488-493.(2007)

Follet, H. Caractérisation Biomécanique et Modélisation 3D par Imagerie X et IRM haute résolution de l'os spongieux humain : Evaluation du risque fracturaire. Laboratoire de mécanique des solides (LMS) thèse de Doctorat INSA de Lyon.(2002)

Fox, P. F. and Condon, J. J. Food proteins. Applied Science Publishers LTD. Cork, Ireland. 361.(1982)

Frank, C. B. Ligament structure, physiology and function. J Musculoskel. Neuron. Interact. **4**(2): 199-201.(2004)

Fraser, D. Le bien être des animaux et l'intensification de la production animale, une autre interprétation. Documents de la FAO sur l'éthique: 1-34.(2006)

Frentz, J.-C. and Zert, P. Encyclopédie de la charcuterie. Soussana. Thiais. 845.(1990)

Fulladosa, E., Garriga, M., Martín, B., Guàrdia, M. D., García-Regueiro, J. A. and Arnau, J. Volatile profile and microbiological characterization of hollow defect in dry-cured ham. Meat Science **86**(3): 801-807.(2010)

Fuller, M.-F. The encyclopedia of farm animal nutrition. Cabi. Cambridge. 606.(2004)

Funderburgh, J. L. Keratan sulfate: structure, biosynthesis, and function. Glycobiology **10**(10): 951-958.(2000)

Fung, Y. C. Biomechanics. Mechanical Properties of Living Tissues. Springer-Verlag. New York.(1993)

Gallot, B. and Molina, J.-F. Protéoglycanes.Actifs et additifs en cosmétologie Tec & Doc. Paris. 135-149.(1999)

Gandemer, G. Lipids in muscles and adipose tissues, changes during processing and sensory properties of meat products. Meat Science **62**(3): 309-321.(2002)

García-González, D. L., Tena, N., Aparicio-Ruiz, R. and Morales, M. T. Relationship between sensory attributes and volatile compounds qualifying dry-cured hams. Meat Science **80**(2): 315-325.(2008)

Garcia, R. A. and Rosentrater, K. A. Concentration of key elements in North American meat & bone meal. Biomass and Bioenergy **32**(9): 887-891.(2008)

Gelatin Manufacturer of Europe <http://www.gelatine.org>. (12 avril 2011).(2011)

Gelatin Manufacturer of Europe La gélatine alimentaire : production et application. Techniques de l'ingénieur, traité Agroalimentaire: F4800- 1-8.(2001)

Geneau, C. Procédé d'élaboration d'agromatériau composite naturel par extrusion bivis et injection moulage de tourteau de tournesol. *Thèse de Doctorat* INP Toulouse.(2006)

Gianelli, M. P., Flores, M. and Toldra, F. Interactions of soluble peptides and proteins from skeletal muscle on the release of volatile compounds. Journal of agricultural and food chemistry **51**(23): 6828-6834.(2003)

Gianelli, M. P., Flores, M. and Toldra, F. Optimisation of solid phase microextraction (SPME) for the analysis of volatile compounds in dry-cured ham. Journal of the science of food and agriculture **82**(14): 1703-1709.(2002)

Girard, J. P., Bout, J. and Salort, D. Lipides et qualités des tissus adipeux et musculaires de porc, facteurs de variation. Journées Rech. Porcine en France **20**: 255-278.(1988)

Goodman, D. C. Quantitative Studies on the Distribution of Lipids in the Bone Marrow of the Rat, Pig, and Cat. Transactions of the Kansas Academy of Science **55**(2): 214-222.(1952)

Gordon, M. H. and Magos, P. The effect of sterols on the oxidation of edible oils. Food Chemistry **10**(2): 141-147.(1983)

Gosline, J. M. and Rosenbloom, J. Extracellular matrix biochemistry. eds Elsevier. Amsterdam. 191-227.(1985)

Goupy, J. La méthode des plans d'expériences; optimisation du choix des essais & de l'interprétation des résultats. Dunod. Paris. 303.(1988)

Greenfield, C. Process of dehydration of fatty materials. US 2651647: 5.(1953)

Grobber, A. H., Goedknecht, M. C. C. and Steele, P. J. Industrial production of gelatin. Progress in Biotechnology Elsevier. **Volume 23**: 151.(2003)

Grobber, A. H., Steele, P. J., Somerville, R. A., Taylor, D. M. and Schreuder, B. E. C. Inactivation of the BSE agent by the heat and pressure process for manufacturing gelatine. The Veterinary record **157**: 277-281.(2005)

Gropper, S. S., Smith, J. L. and Groff, J. L. Advanced Nutrition and Human Metabolism. Thomson Wadworth. Belmont, USA. 179-251.(2008)

Guichard, E. Flavour retention and release from protein solutions. Biotechnology Advances **24**(2): 226-229.(2005)

Guillerminet, F., Beaupied, H., Fabien-Soulé, V., Tomé, D., Benhamou, C.-L., Roux, C. and Blais, A. Hydrolyzed collagen improves bone metabolism and biomechanical parameters in ovariectomized mice: An in vitro and in vivo study. Bone **46**(3): 827-834.(2010)

Gunstone, F. D. and Padley, F. B. Lipid Technologies and Applications, Marcel Dekker Inc. New York. 222.(1997)

Haidara, A. O. Valorisation d'une huile végétale tropicale : l'huile de pourghère. *Mémoire de Maîtrise* Université de Sherbrooke, Canada.(1996)

Hamm, R. Functional properties of the myofibrillar system and their measurements. Bechtel, P.J. Editor. Academic Press, New York. 135-199.(1986)

Hansen, P.-I. and Bodker, F.-S. Process for producing protein product from bone-containing animal material. US 5141763: 8.(1991)

Highberger, J. H. The Isoelectric Point of Collagen. Journal of the American Chemical Society **61**(9): 2302-2303.(1939)

Hill, F. The Solubility of Intramuscular Collagen in Meat Animals of Various Ages. Journal of Food Science **31**(2): 161-166.(1966)

Hinterwaldner, R. Science and Technology of Gelatin. Academic Press London. **9**: 295-315.(1977)

Holm, L.-G. and Korremann-Nielsen, B.-N. Récupération du gras et des farines de viande à partir de produits animaux. US 4137335: 5.(1974)

Hwang, A., Ji, W. and Khim, J. Characteristics of phosphorus containing waste-bones. Materials Letters **61**(3): 677-679.(2007)

- INAO** Institut National de l'Origine et de la qualité <http://www.inao.gouv.fr/>. (13 avril 2011)
- INVS** Maladie de Creutzfeldt-Jakob et maladies apparentées. http://www.invs.sante.fr/publications/mcj/donnees_mcj.html (05 Avril 2011). (2011)
- Iozzo, R. V.** Matrix proteoglycans: from molecular design to cellular function. Annu Rev Biochem **67**: 609-652. (1998)
- Jackson, R. A., McDonald, M. M., Nurcombe, V., Little, D. G. and Cool, S. M.** The use of heparan sulfate to augment fracture repair in a rat fracture model. Journal of Orthopaedic Research **24**(4): 636-644. (2006)
- Jeng, A., Haraldsen, T., Grønlund, A. and Pedersen, P.** Meat and bone meal as nitrogen and phosphorus fertilizer to cereals and rye grass. Nutrient Cycling in Agroecosystems **76**(2): 183-191. (2006)
- Johns, P.** Science and Technology of Gelatin. Academic Press London. **9**: 32-68. (1977)
- Journal Officiel de l'Union Européenne** Additifs alimentaires autres que les colorants et les édulcorants (thrombine bovine et/ou porcine). **2011/C 161 E/10**. (19 mai 2010)
- Karleskind, A.** Le Manuel des Corps Gras. éd. Tec & Doc. Lavoisier, Paris. 1571. (1992)
- Karleskind, A. and Wolff, J. P.** Oils and Fats Manual : A comprehensive treatise: properties, production, applications Andover. **vol. 1**: 258-261. (1996)
- Keeton, J. T., Eddy, S. and Werner Klinth, J.** Chemical and physical characteristics of meat : Chemical Composition. Encyclopedia of Meat Sciences Elsevier. Oxford. 210-218. (2004)
- Kenney, M. A., McCoy, H. and Williams, L.** Effects of magnesium deficiency on strength, mass, and composition of rat femur. Calcified Tissue International **54**(1): 44-49. (1994)
- Knothe, G.** Structure indices in FA chemistry. How relevant is the iodine value? Journal of the American Oil Chemists' Society **79**(9): 847-854. (2002)
- Kominsz, D. R., Hough, A., Symonds, P. and Laki, K.** The amino acid composition of actin, myosin, tropomyosin and the meromyosins. Archives of Biochemistry and Biophysics **50**(1): 148-159. (1954)
- Kondjoyan, N., Viallon, C., Berdagué, J.-L., Daridan, D., Simon, M.-N. and Legault, C.** Analyse comparative de la fraction volatile de jambons secs de porcs Gascon et Large-White x Landrace Français. Journées Rech. Porcine en France **29**: 405-410. (1997)
- Krog, N.** Theoretical aspects of surfactants in relation to their use in breadmaking. Cereal Chemistry **58**(3): 158-164. (1981)
- Krusius, T., Finne, J., Margolis, R. K. and Margolis, R. U.** Identification of an O-glycosidic mannose-linked sialylated tetrasaccharide and keratan sulfate oligosaccharides in the chondroitin sulfate proteoglycan of brain. Journal of Biological Chemistry **261**(18): 8237-8242. (1986)
- Kumai, T., Yamada, G., Takakura, Y., Tohno, Y. and Benjamin, M.** Trace Elements in Human Tendons and Ligaments. Biological Trace Element Research **114**: 151-161. (2006)
- Laakkonen, E., Wellington, G. H. and Sherbon, J. N.** Low-temperature, long-time heating of bovine muscle 1. Changes in Tenderness, Water-Binding Capacity, pH and Amount of Water-Soluble Components. Journal of Food Science **35**(2): 175-177. (1970)
- Larbier, M. and Leclercq, B.** Nutrition et alimentation des volailles. Quae. Inra Paris. 355. (1992)
- Lawrie, R. A.** Lawrie's Meat Science. Cambridge. (1998)

Lebret, B., Lefaucheur, L., Mourot, J. and Bonneau, M. Influence des facteurs d'élevage sur la qualité de la viande de porc. Journées Rech. Porcine en France **28**: 137-156.(1996)

Lebret, B. and Mourot, J. Caractéristiques et qualité des tissus adipeux chez le porc. INRA Prod.Anim. **11**(2): 131-143.(1998)

Lee, C. H., Singla, A. and Lee, Y. Biomedical applications of collagen. International Journal of Pharmaceutics **221**(2): 1-22.(2001)

Lemann, J, J. R., Pleuss, J, A., Gray and R, W. Potassium causes calcium retention in healthy adults : Dietary factors influencing calcium and bone metabolism. American Society for Nutrition. Bethesda, MD, Etats-Unis. **123**.(1993)

Li, F., Jia, D. and Yao, K. Amino acid composition and functional properties of collagen polypeptide from Yak (*Bos grunniens*) bone. LWT - Food Science and Technology **42**(5): 945-949.(2009)

Lima, F.-R., Mendonça, C.-X., J.-C., A., Garzillo, J.-M.-F., Ghion, E. and Leal, P.-M. Biological Evaluations of Commercial Dicalcium Phosphates as Sources of Available Phosphorus for Broiler Chicks. Poultry Science **76**: 1707-1713.(1997)

Linder, M., Fanni, J., Parmentier, M. and Regnault, P. Procédé d'extraction protéique par hydrolyse enzymatique. **FR 2637644**: 8.(1995)

Liu, D. C. Better utilization of by-products from the meat industry. www.agnet.org/library/eb/515/ (2002)

Lüllmann-Rauch, R. Histologie. De Boeck. Bruxelles. 679.(2008)

Lutjohann, D., Bjorkhem, I., Beil, U. F. and Von Bergmann, K. Sterol absorption and sterol balance in phytosterolemia evaluated by deuterium-labeled sterols : effect of sitostanol treatment. American Society for Biochemistry and Molecular Biology. Bethesda, MD, Etats-Unis. **36**: 11.(1995)

Madsen, T.-B. Process for the production of powdered protein materials from animal raw material. **US 4389423**: 4.(1981)

Malepeyre, F and Bertran, H Nouveau manuel complet de la fabrication des colles. Emotion Primitive. Fontaine. 522.(2010)

Maréchal, P. Analyse des principaux facteurs impliqués dans le fractionnement combiné de pailles et de sons de blé en extrudeur bi-vis : obtention d'agro-matériaux. *Thèse de Doctorat* INP Toulouse.(2001)

Mathews, C. K. and Van Holde, K. E. Biochemistry, 2nd edition. Benjamin/Cummings Publishing Company. New York.(1992)

McCurdy, S. M., Jelen, P. and Wood, D. F. Protein recovery from mechanically separated pork residue. Canadian Institute of Food Science and Technology **20**: 53-55.(1987)

McKee, M. and Nanci, A. Osteopontin at mineralized tissue interfaces in bone, teeth, and osseointegrated implants: Ultrastructural distribution and implications for mineralized tissue formation, turnover, and repair. Microscopy Research and Technique **33**(2): 141-164.(1996)

McLean, J The thromboplastic action of cephalin. Am J Physiol **41**: 250-7.(1916)

Mehta, P. S. and Anand, K. Estimation of a Lower Heating Value of Vegetable Oil and Biodiesel Fuel. Energy & Fuels **23**(8): 3893-3898.(2009)

Mithieux, S. M., Wise, S. G., Raftery, M. J., Starcher, B. and Weiss, A. S. A model two-component system for studying the architecture of elastin assembly in vitro. Journal of Structural Biology **149**(3): 282-289.(2005)

Mohanty, A. K., Misra, M. and Drzal, L. T. Sustainable Bio-Composites from Renewable Resources: Opportunities and Challenges in the Green Materials World. Journal of Polymers and the Environment **10**(1): 19-26.(2002)

- Monziols, M., Bonneau, M., Davenel, A. and Kouba, M.** Comparison of the lipid content and fatty acid composition of intermuscular and subcutaneous adipose tissues in pig carcasses. *Meat Science* **76**(1): 54-60.(2007)
- Monziols, M., Bonneau, M., Mouro, J., Davenel, A. and Kouba, M.** Les tissus adipeux intermusculaires présentent d'importantes particularités de développement et de composition en comparaison des tissus adipeux sous-cutanés chez le porc. *Journées Recherche Porcine* **38**: 61-66.(2006)
- Moy, J. and Takerkart, G.** Procédé continu d'obtention de gélatine à partir de poudre d'os et gélatine obtenue. **FR 2625412**: 12.(1987)
- Nakano, T., Dodd, C. M. and Scott, P. G.** Glycosaminoglycans and proteoglycans from different zones of the porcine knee meniscus. *Journal of Orthopaedic Research* **15**(2): 213-220.(1997)
- Nononene, A.** Élaboration et caractérisation mécanique de panneaux de particules de tige de kénaf et de bioadhésifs à base de colle d'os, de tannin ou de mucilage. *Thèse de doctorat INP Toulouse*.(2009)
- Neuman, R. E. and Logan, M. A.** The determination of collagen and elastin in tissues. *J. biol.Chem.* **186**: 549.(1950)
- Nicolalde, C., Stetzer, A. J., Tucker, E. M., McKeith, F. K. and Brewer, M. S.** Antioxydant and modified atmosphere packaging prevention of discoloration in pork bones during retail display. *Meat Science* **72**(4): 713-718.(2006)
- Niemeijer, R.** Industrial production of collagen for food applications. *Progress in Biotechnology Elsevier. Volume 23*: 151.(2003)
- Nuckles, R. O., Smith, D. M. and Merkel, R. A.** Meat By-product Protein Composition and Functional Properties in Model Systems. *Journal of Food Science* **55**(3): 640-643.(1990)
- Ockerman, H. W.** Source book for food scientists (Second Edition). AVI Publishing Company. Westport, Etats-Unis.(1991)
- Ockerman, H. W., Basu, L. and Werner Klinth, J.** By-products : Edible, for Human Consumption. *Encyclopedia of Meat Sciences Elsevier. Oxford*. 104-112.(2004)
- Ockerman, H. W. and Hansen, C. L.** Animal By-Product Processing. VCH. Chichester. 370.(1988)
- Office de l'élevage** Inventaire international des potentialités de valorisation des co-produits animaux : observation des pays étrangers. 39.(2007)
- OIE** Organisation Mondiale de la Santé Animale http://www.oie.int/fr/info/fr_esbmonde.htm. (07 Août 2010)
- Olde Damink, L.** Industrial production of collagen for medical applications. *Progress in Biotechnology Elsevier. Volume 23*: 151-153.(2003)
- Orgel, J. P. R. O., Miller, A., Irving, T. C., Fischetti, R. F., Hammersley, A. P. and Wess, T. J.** The In Situ Supermolecular Structure of Type I Collagen. *Structure* **9**(11): 1061-1069.(2001)
- Padmashree, T. S., Vijayalakshmi, L. and Puttaraj, S.** Effect of traditional processing on the functional properties of cowpea (*Vigna catjang*) flour. *Association of Food Scientists and Technologists. Mysore, INDE.* **24**: 221-225.(1987)
- Pearl, G. G. and Werner, K. J.** By-products : Inedible. *Encyclopedia of Meat Sciences Elsevier. Oxford*. 112-125.(2004)
- Pearson, A. M. and Young, R. B.** Muscle and meat biochemistry - Food science and technology, a series of monographs. Elsevier Science and Technology Books.(1989)
- Pechenart, M.** Procédé de traitement d'os. **FR 2600337**: 11.(1986)

Pedersen, M. E., Kolset, S. O., Sørensen, T. and Eggen, K. H. Sulfated Glycosaminoglycans and Collagen in Two Bovine Muscles (M. Semitendinosus and M. Psoas Major) Differing in Texture. Journal of Agricultural and Food Chemistry **47**(4): 1445-1452.(1999)

Pérez-Juan, M., Flores, M. and Toldra, F. Model studies on the efficacy of protein homogenates from raw pork muscle and dry-cured ham in binding selected flavor compounds. J. Agric. Food Chem. **54**: 4802-4808.(2006)

Pérez-Juan, M., Flores, M. and Toldrá, F. Binding of aroma compounds by isolated myofibrillar proteins: Effect of protein concentration and conformation. Food Chemistry **105**(3): 932-939.(2007)

Pérez-Juan, M., Flores, M. and Toldrá, F. Generation of volatile flavour compounds as affected by the chemical composition of different dry-cured ham sections. European Food Research and Technology **222**(5): 658-666.(2006)

Pertuiset, E. Efficacité thérapeutique des chondroïtines sulfates dans l'arthrose. Mise au point sur la structure, la sulfatation et le mode d'action, revue du rhumatisme. Revue du rhumatisme (Rev. rhum.) **69**: pp. 157s-170s (2002)

Petitjean, S. La crise de la " vache folle ". Dossier de l'Environnement de l'INRA n°13: 50 pp.(1996)

Peyron, A. and Lemoine, E. Mise au point d'un procédé d'extraction et de valorisation des co-produits animaux comme ingrédients ou hydrolysats fonctionnels.N° Réf.SIVAL NL : 2004-0571 ADIV. Clermont-Ferrand.(2006)

Pline l'Ancien Histoire naturelle. **XXVIII**.(Ier siècle)

Poirier, J., Catala, M., André, J. M., Gherardi, R. and Bernaudin, J. F. Histologie : les tissus. Masson. Paris. 208.(2006)

Poirier, J., Ribadeau-Dumas, J.-L., Catala, M. and André, J. M. Histologie moléculaire : Texte et atlas. Masson. Paris. 430.(1999)

Protein Health Foods - <http://www.protein.es/eng/adiet.htm> (13 avril 2011)

Prusiner, S. B. Prions. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **95**(23): 13363-13383.(1998)

Rabenstein, D. L. Heparin and Heparan Sulfate: Structure and Function. Natural Product Reports **19**: 312-331.(2002)

Raloff, J. Food for Thought: Global Food Trends. Science News Online http://www.sciencenews.org/view/generic/id/3902/title/Global_Food_Trends (2003)

Ramarathnam, N., Rubin, L. J. and Diosady, L. L. Studies on meat flavor. 1. Qualitative and quantitative differences in uncured and cured pork. Journal of Agricultural and Food Chemistry **39**(2): 344-350.(1991)

Raszkowski, R. R., Welty, J. D. and Peterson, M. B. The amino acid composition of actin and myosin and Ca²⁺-activated myosin adenosine triphosphatase in chronic canine congestive heart failure. Circ Res **40**(2): 191-198.(1977)

Rbii, K. Formation d'agrégats de hauts poids moléculaires dans la gélatine et comportement en solution aqueuse. INP Thèse de doctorat Toulouse 152.(2010)

Règlement n° 1774/2002 Règlement (CE) n° 1774/2002 du Parlement européen et du Conseil du 3 octobre 2002 établissant des règles sanitaires applicables aux sous-produits animaux non destinés à la consommation humaine 1-95

Resurreccion, A. V. A. Sensory aspects of consumer choices for meat and meat products. Meat Science **66**(1): 11-20.(2004)

Robelin, J. and Casteilla, L. Différenciation, croissance et développement du tissu adipeux. INRA Prod.Anim. **3**(4): 243-252.(1990)

Robert, N. and Lanore, D. Les apports nutritionnels du jambon de Bayonne. 5. Symposium International sur le Porc Méditerranéen: 269-275.(2007)

Rodén, L. Structure and metabolism of connective tissue proteoglycans. Plenum Press, New York. 267-271.(1980)

Rondel, C. Synthèses et propriétés de mélanges de nouvelles molécules polyfonctionnelles lipopeptidiques tensioactives Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle Thèse de Doctorat INPT.(2009)

Rønnestad, I., Conceicao, L. E. C., Aragao, C. and Dinis, M. T. Free amino acids are absorbed faster and assimilated more efficiently than protein in postlarval Senegal sole (*Solea senegalensis*). American Society for Nutrition. Bethesda, MD, Etats-Unis. **130**.(2000)

Rouilly, A., Orliac, O., Silvestre, F. and Rigal, L. DSC study on the thermal properties of sunflower proteins according to their water content. Elsevier. Kidlington, Royaume-Uni. **42**.(2001)

Rowe, R. W. D. Elastin in bovine Semitendinosus and Longissimus dorsi muscles. Meat Science **17**(4): 293-312.(1986)

Ruiz, J., Ventanas, J., Cava, R., Andrés, A. and García, C. Volatile compounds of dry-cured Iberian ham as affected by the length of the curing process. Meat Science **52**(1): 19-27.(1999)

Ruoslahti, E. Structure and Biology of Proteoglycans. Annual Review of Cell Biology **4**(1): 229-255.(1988)

Sánchez-Peña, C. M., Luna, G., García-González, D. L. and Aparicio, R. Characterization of French and Spanish dry-cured hams: influence of the volatiles from the muscles and the subcutaneous fat quantified by SPME-GC. Meat Science **69**(4): 635-645.(2005)

Sandberg, M. M. Matrix in cartilage and bone development: current views on the function and regulation of major organic components. Taylor & Francis. Basingstoke, Royaume-Uni. **23**: 11.(1991)

Schreuder, B. E. C., Geertsma, R. E., van Keulen, L. J. M., van Asten, J. A. A. M., Enthoven, P., Oberthur, R. C., de Koeijer, A. A. and Osterhaus, A. D. M. E. Studies on the efficacy of hyperbaric rendering procedures in inactivating bovine spongiform encephalopathy (BSE) and scrapie agents. Vet Rec. **142**(18): 474-480.(1998)

Schrieber, R. and Gareis, H. Gelatin Handbook: Theory and Industrial Practice. Wiley-VCH.: 347.(2007)

Scott, J. E. Proteoglycan-fibrillar collagen interactions. Biochemical Journal **252**(2): 313-323.(1988)

Selmane, D., Christophe, V. and Gholamreza, D. Extraction of proteins from slaughterhouse by-products: Influence of operating conditions on functional properties. Meat Science **79**(4): 640-647.(2008)

Sharp, J. The amino-acid composition of rabbit myosin. Biochem J. **33**(5): 679-93.(1939)

Shimokomaki, M., Elsdon, D. F. and Bailey, A. J. Meat tenderness: Age related changes in bovine intramuscular collagen. J. Food Sci. **37**: 892-896.(1972)

SIFCO Syndicat des Industries Françaises des Co-produits Animaux, www.sifco.fr. (26 Août 2010).(2010)

Slade, L., Levine, H. and Finley, J. W. Protein-water interactions: water as a plasticizer of gluten and other protein polymers. R. D. Phillips et J. W. Finley. New York. 9-124.(1989)

Söderhäll, C., Marenholz, I., Kerscher, T., Rüschenhoff, F., Esparza-Gordillo, J., Worm, M., Gruber, C., Mayr, G., Albrecht, M., Rohde, K., Schulz, H., Wahn, U., Hubner, N. and Lee, Y.-A. Variants in a Novel Epidermal Collagen Gene (COL29A1) Are Associated with Atopic Dermatitis. PLoS Biol **5**(9): e242.(2007)

- Stute, R. and Ingrid, S.** A process for the production of meat broth and meat extract. **EP0569941**.(1998)
- Suzuki, M.** Prosthetic group of cornea mucoid. J. Biochem. **30**: 185-191.(1939)
- Taylor, A. J.** Physical chemistry of Flavour. International Journal of Food Science & Technology(33): 53-62.(1998)
- Taylor, D. M.** Inactivation of BSE agent. Journal of Food Safety **18**(4): 265-274.(1998)
- Taylor, D. M. and Woodgate, S. L.** Rendering practices and inactivation of transmissible spongiform encephalopathy agents. Rev Sci Tech. **22**(1): 297-310.(2003)
- Tejeda, J. F., García, C., Petró, M. J., Andrés, A. I. and Antequera, T.** n-Alkane content of intramuscular lipids of Iberian fresh ham from different feeding systems and crossbreeding. Meat Science **57**(4): 371-377.(2001)
- Thomas, R., Gadekar, Y. P., Kandeepan, G., George, S. K. and Kataria, M.** Effect of extraction conditions and post mortem ageing period on yield of salt soluble proteins from buffalo (*Bubalus bubalis*) Lean meat. Am. J. Food Technol **2**: 313-317.(2007)
- Thomssen, E. G.** Soap-making manual: a practical handbook on the raw materials, their manipulation, analysis and control in the modern soap plant. Van Nostrand. New-York. 243.(1922)
- Toldra, F. and Flores, M.** The role of muscle proteases and lipases in flavor development during the processing of dry-cured ham. Critical reviews in food science and nutrition **38**(4): 331-52.(1998)
- Toldra, F., Flores, M. and Sanz, Y.** Dry-cured ham flavor: enzymatic generation and process influence. Food Chemistry **59**(4): 523-530.(1997)
- Toldra, F. and Werner Klinth, J.** Curing : Dry.Encyclopedia of Meat Sciences Elsevier. Oxford. 360-366.(2004)
- Tornberg, E.** Effects of heat on meat proteins - Implications on structure and quality of meat products. Meat Science **70**(3): 493-508.(2005)
- Torres, A.** Décantation des eaux pluviales dans un ouvrage réel de grande taille : éléments de réflexion pour le suivi et la modélisation. Institut National des Sciences Appliquées de Lyon.(2008)
- Tortora, G. J. and Grabowsky, S. R.** Principes d'anatomie et de physiologie. De Boeck Université. Québec.(1994)
- Totland, G. K., Kryvi, H. and Slinde, E.** Composition of muscle fibre types and connective tissue in bovine M. semitendinosus and its relation to tenderness. Meat Science **23**(4): 303-315.(1988)
- Tsuzaki, M., Yamauchi, M. and Banes, A. J.** Tendon Collagens: Extracellular Matrix Composition in Shear Stress and Tensile Components of Flexor Tendons. Connective Tissue Research **29**(2): 141-152.(1993)
- Ubifrance** Le marché de la viande transformée de porc.(2009)
- Vallet-Regí, M. and González-Calbet, J. M.** Calcium phosphates as substitution of bone tissues. Progress in Solid State Chemistry **32**(1-2): 1-31.(2004)
- Van Ferneij, J. P.** Témoignage, IFIP.(2010)
- Van Gerpen, J.** Biodiesel processing and production. Fuel Processing Technology **86**(10): 1097-1107.(2005)
- Vasta, V., Ratel, J. and Engel, E.** Mass Spectrometry Analysis of Volatile Compounds in Raw Meat for the Authentication of the Feeding Background of Farm Animals. Journal of Agricultural and Food Chemistry **55**(12): 4630-4639.(2007)

Verhé, R., Mittelbach, M., Mateo, S., Eychenne, V., De Caro, P., Mouloungui, Z. and Stevens, C. Industrial Products from Lipids and Proteins. Renewable Bioresources : Scope and Modifications for Non-Pod Applications John Wiley & Sons. London. 208-249.(2004)

Voldjberg Sorensen, S. A method for producing an edible concentrated proteinic hydrolysate, especially a soup concentrate and uses thereof. **EP1879468**.(2008)

Vollmer, A.-N. and Rosenfield, R.-G. Extraction des protéines des os de porc. **US 4402873**: 5.(1982)

Walch, G. Proteins : biochemistry and biotechnology. John Wiley and Sons. Chichester. 547.(2002)

Wettasinghe, M., Vasanthan, T., Temelli, F. and Swallow, K. Volatile flavour composition of cooked by-product blends of chicken, beef and pork: a quantitative GC-MS investigation. Food Research International **34**(2/3): 149-158.(2001)

Wojcik, H.-W. Low fat stabilized bone and method of production. **EP 0020722**: 10.(1979)

Wojcik, H.-W. Process for separating and recovering fat and proteinaceous material from raw organic material. **US 4361590**: 14.(1980)

Wood, J. D., Enser, M., Fisher, A. V., Nute, G. R., Sheard, P. R., Richardson, R. I., Hughes, S. I. and Whittington, F. M. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. Meat Science **78**(4): 343-358.(2008)

Wopenka, B. and Pasteris, J. D. A mineralogical perspective on the apatite in bone. Materials Science and Engineering: C **25**(2): 131-143.(2005)

Yasamatsu, K., Sawada, K., Moritaka, S., Misaki, M., Toda, J. and Wada, T. Whipping and emulsifying properties of the soy products. Agric Biol Chem **36**: 719-728 (1972)

Yeung, D. K. W., Lam, S. L., Griffith, J. F., Chan, A. B. W., Chen, Z., Tsang, P. H. and Leung, P. C. Analysis of bone marrow fatty acid composition using high-resolution proton NMR spectroscopy. Chemistry and Physics of Lipids **151**(2): 103-109.(2008)

Young, F. Palm Kernel and coconut oils: Analytical characteristics, process technology and uses. Journal of the American Oil Chemists' Society **60**(2): 374-379.(1983)

Zayas, J. F. Functionality of proteins in food Springer. New York. 373.(1997)

Liste des abréviations

Acides Aminés :

Lys	Lysine
His	Histidine
Arg	Arginine
Asp	Asparagine
Thr	Thréonine
Ser	Sérine
Glu	Glutamine
Hyp	Hydroxyproline
Pro	Proline
Gly	Glycine
Ala	Alanine
Val	Valine
Ile	Isoleucine
Leu	Leucine
Tyr	Tyrosine
Phe	Phénylalanine
Cys	Cystéine
Met	Méthionine
Ide	Isodesmosine
Des	Desmosine

AAL : Acides Aminés Libres

AAT : Acides Aminés Totaux

AGL : acides gras libres

CE : Capacité Emulsionnante

COV : Composé Organique Volatil

CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse

CS : Chondroïtine Sulfate

CM : Capacité Moussante

DMA : Dynamic Mechanical Analysis (analyse thermique mécanique dynamique)

DMMB : DiMethyl-Methylene Blue

DMPE : diméthylphosphatidyléthanolamine

DSC : Differential Scanning Calorimetry (analyse enthalpique différentielle)

ESB : Encéphalopathie Spongiforme Bovine

FID : Détecteur à Ionisation de Flamme

FMGD : Fraction Matière Grasse Décantée

FPS : Fraction Protéines Solubilisées

GAG : Glycosaminoglycanes

GPM : Granulat Protéo-Minéral

GC-MS : Chromatographie Gazeuse couplée à un Spectromètre de Masse

HIS : protéines solubles dans des solutions concentrées en sel (High Ionic Strength soluble)

HPLC : High Pressure Liquid Chromatography

HR : Humidité Relative

IGP : Indication Géographique Protégée

I_i : Indice d'iode

IN : protéines Insolubles

INS : Insolubles (caractéristiques des savons)

I_s : Indice de saponification

L : teneur en Lipides

LIS : protéines solubles dans des solutions concentrées en tampon phosphate (Low Ionic Strength Soluble)

MEB : Microscopie Electronique à Balayage

MCJ : Maladie de Creutzfeldt-Jakob

MGS : Matière Grasse Solide

MM : teneur en Matière Minérale

MS : teneur en Matière Sèche

MSHFBA : N-méthyl-N-triméthylsilyl-heptafluorobutyramide

MSi : Matière Sèche introduite

Nd : non déterminé

NF : Norme Française

ni : non identifié

P : teneur en Protéines

PAT : Protéines Animales Transformées

P_{CI} : Pouvoir Calorifique Inférieur

pH : potentiel Hydrogène

Ratio L/S ou L/S: Ratio Liquide/Solide

R_{GAG} : le rendement en glycosaminoglycannes récupérés dans la phase aqueuse de décantation des matières grasses

R_L : le rendement en lipides entraînés à chaud et séparés sous forme de matière grasse par décantation à froid

R_P : le rendement en protéines extraites à chaud et séparées dans la phase aqueuse de décantation des matières grasses à froid

R_{MGSD} : le rendement en matière sèche de matière grasse extraite et décantée

R_{MSE} : le rendement en matière sèche extraite du co-produit de jambon sec concassé et séparé par filtration à chaud

R_{MSSF}, le rendement en matière sèche extraite et séparée dans la phase aqueuse de décantation des matières grasses

SDE : Simultaneous Distillation Extraction

SDS : « Sodium Dodecyl Sulfate », Laurylsulfate de Sodium ou Dodécylsulfate de sodium

SE : Stabilité Emulsionnante

SM : Stabilité Moussante

Totox : Total Oxydation = 2 fois l'indice de peroxyde + indice d'anisidine

Résumé

Le coproduit de fabrication de jambon sec est issu de l'opération de désossage de la cuisse de porc parée, salée, séchée et affinée. Il est constitué à plus de 85 % d'os et de tissus associés (cartilages, ligaments, tendons). Le concassage au broyeur à marteau permet d'homogénéiser le coproduit en morceaux de taille inférieure à 8 cm (> 90 % compris entre 40 et 80 mm). La composition chimique de la matière sèche du mélange (77 ± 3 % de MS) est de 33 ± 5 % en protéines (89 % de collagène, 14 % de protéines hydrosolubles, 6 % d'acide aminés libres), 31 ± 3 % en lipides (triglycérides : 70 % ; diglycérides : 3,5 % ; acides gras libres : 11 % ; saturé/insaturé : 0,87 ; 24 % C16 :0 ; 13 % C18 :0 ; 2 % C16 :1 ; 38 % C18 :1 ; 4 % C18 :2) et 26 ± 4 % de matière minérale (phosphate de calcium 88 % ; NaCl 9 %). L'extraction aqueuse des lipides et des protéines du coproduit est étudiée en contacteur agité. Le raffinat solide est séparé par filtration à chaud sous forme de granulats et la matière grasse entraînée est séparée par décantation à froid. L'étude de l'influence des principaux facteurs de l'extraction liquide/solide (temps de contact : 30 à 90 min, température : 40 à 90°C ; ratio eau/coproduit : 4 à 10) grâce à la réalisation d'un plan d'expérience met en évidence les effets de la solubilisation et la coagulation des protéines sur l'entraînement des lipides et leur décantation sous forme de matière grasse. Mis en œuvre à l'échelle pilote (64 kg de coproduit de jambon sec concassé, 207 kg d'eau, 30 min à 90°C en contacteur agité), le procédé de fractionnement aqueux conduit par filtration centrifuge et séchage à un granulats stable (rendement : 59 % ; matière minérale : 41 % ; protéines : 43 % ; lipides : 16 %), source de phosphate de calcium (95 % de la matière minérale) et de gélatine ou de colle d'os (88 % de protéines de nature collagénique). La fraction matière grasse décantée (rendement : 24 % ; lipides : 93 % ; triglycérides : 75 % ; diglycérides : 4 % ; acides gras libres : 7 % ; saturé/insaturé : 0,82 % ; 37 % C16 :0 ; 15 % C18 :0 ; 2 % C16 :1 ; 44 % C18 :1 ; 8 % C18 :2) présente les mêmes caractéristiques physicochimiques que le saindoux, avec une odeur proche de celle du jambon sec (19 COV aromatiques identifiés présents dans les arômes majoritaires de jambon). La fraction protéines solubilisées, obtenue sous forme de lyophilisat après concentration de la phase aqueuse (rendement : 8 % ; protéines : 52 % dont 29 % d'acides aminés libres ; matière minérale : 29 % dont 90 % NaCl, lipides : 3 %), contient aussi des glucosaminoglycanes sulfatés (GAGs : 3,4 %). Ces caractéristiques de composition, associées à ses propriétés épaississantes et gélifiantes, adhésives et stabilisantes d'émulsion, font de cette fraction minoritaire du procédé de fractionnement aqueux du coproduit de jambon sec, un extrait aux multiples applications à forte valeur ajoutée (source de peptones pour la culture de champignons et de levures, adhésif et liant naturel, ingrédient de formulation alimentaire nutraceutique et cosmétique).

Abstract

The ham production by-product comes from the deboning of dressed, salted, dried and refined pork leg. It consists of more than 85% of bone and associated tissues (cartilage, ligaments, tendons). Hammer mill crushing allows homogenizing the by-product into pieces smaller than 8 cm (> 90% between 40 and 80 mm). Dry matter chemical composition of the blend; (77 ± 3 % DM) is 33 ± 5 % protein (89% collagen, 14% of water-soluble proteins, 6% free amino acid), 31 ± 3 % lipids (triglycerides: 70% diglycerides: 3.5%; free fatty acids: 11%; saturated / unsaturated: 0.87; 24% C16: 0; 13% C18: 0; 2% C16: 1; 38% C18: 1; 4% C18: 2) and 26 ± 4 % mineral matter (calcium phosphate 88%, 9% NaCl). Lipids and proteins aqueous extraction of the by-product is studied in an agitated contactor reactor. The solid raffinate was separated by hot filtration to an aggregate and the fat is separated by cold decantation. The study of the influence of main factors of the liquid / solid extraction (contact time: 30 to 90 min, temperature: 40 to 90 °C; ratio water / by-product: 4 to 10) through the implementation of an experimental design, highlights the effects of proteins dissolution and coagulation on lipid output and decantation as fat matter. By pilot scale implementation (64 kg of crushed by-product of dry-cured ham, 207 kg of water, 30 min at 90 ° C in agitated contactor), the aqueous fractionation process leads, by centrifugal filtration and drying, to a stable aggregate (yield: 59%; mineral matter: 41%; protein 43%; lipids: 16%), source of calcium phosphate (95% of the mineral) and gelatin or bone glue (88% collagenous protein). The decanted fat fraction (yield: 24%; lipids: 93%; triglycerides: 75%; diglycerides: 4% free fatty acids: 7%; saturated / unsaturated: 0.82%; 37% C16: 0; 15% C18: 0; 2% C16: 1; 44% C18: 1; 8% C18: 2) has the same physicochemical characteristics as lard, with an odor similar to that of dry-cured ham (19 identified aromatic VOC part of ham main flavors). The solubilized protein fraction, obtained as a lyophilized extract after concentration of the aqueous phase (yield: 8%; protein: 52% with 29% of free amino acids; mineral matter: 29%, with 90% NaCl, lipids: 3%), also contains sulfated glycosaminoglycans (GAGs: 3.4%). These composition characteristics, associated with its thickening and gelling properties, adhesive and stabilizing for emulsion, transforms this minor fraction of the aqueous fractionation process of the dry-cured ham byproduct, in an high added value multiple applications extract (source of peptones for culture for fungi and yeasts, a natural and binding adhesive, ingredient for food nutraceutic and cosmetic formulation).