

ACADEMIE DE MONTPELLIER

UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DU LANGUEDOC

DIPLOME D'ETUDES APPROFONDIES EN SCIENCES ALIMENTAIRES

- ESSAI DE CERTAINES COMBINAISONS DE CRYOPROTECTEURS
ADDITIONNEES A LA PULPE DE CABILLAUD CONGELE, APRES
RECUPERATION MECANIQUE A PARTIR DES CHUTES DE FILETAGE -

par

VERONIQUE VERREZ

Maitrise Sciences et Techniques en Sciences et
Technologies des industries alimentaires

présenté le 28 septembre 1984

devant le Jury de la Commission d'Examen

Prof. ANDRIEU

M. AUTRAN

Prof. BESANCON

Prof. CHEFTEL, président du Jury

M. CORDONNIER

Prof. CROUZET

Prof. GALZY

Prof. NAVARRO

Prof. TARODO

Ce présent travail a été réalisé à l'Institut Scientifique et Technique des Pêches Maritimes de Nantes dans le département "Utilisation et Valorisation des Produits", sous la directive de Monsieur Luçay HAN-CHING, chef du laboratoire "Qualité des Produits".

Je tiens à le remercier de son soutien tout au long de l'année et de ses conseils pour la rédaction de ce mémoire, qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

Je remercie également tous les membres du département (un merci tout particulier à Madame Ewa LUKOMSKA) de leur aide précieuse et de leur amitié.

P L A N

	Pages
RESUME	1
INTRODUCTION	3
MATERIELS ET METHODES	8
1)- Substances chimiques utilisées	
1-1)- En tant que cryoprotecteurs	
1-2)- En tant que dénaturant	
2)- Essais in vitro	
2-1)- Préparation des échantillons	
2-2)- Mesure de l'indice de solubilité des protéines	
3)- Essais dans la pulpe	
3-1)- Préparation des échantillons	
3-2)- Mesures	
3-2-a)- Mesure de l'indice de solubilité	
3-2-b)- Mesure de la capacité émulsifiante des protéines	
3-2-c)- Mesure de l'indice texturométrique	
3-2-d)- Mesure du pourcentage de diméthylamine	
RESULTATS ET DISCUSSION	13
CONCLUSION	22
TABLEAUX ET FIGURES	23
BIBLIOGRAPHIE	33
ANNEXE	36

R E S U M E

La récupération mécanique de pulpe de poisson à partir des résidus de filetage permet d'augmenter de 6 à 10% le rendement en chair utilisable du cabillaud Gadus morhua. Mais pendant l'entreposage congelé, les protéines de la pulpe se dénaturent très rapidement, aussi l'emploi de substances (qu'on appelle cryoprotecteurs) qui ralentiraient, retarderaient ou inhiberaient partiellement la dénaturation des protéines a-t-il été envisagé.

Afin de profiter des divers mécanismes d'action de chaque agent, il a paru intéressant de tester des mélanges de substances cryoprotectrices.

Les essais de combinaisons de cryoprotecteurs sont effectués au préalable in vitro, sur des solutions de protéines musculaires, puis sur la pulpe non lavée.

Les résultats obtenus in vitro peuvent se résumer ainsi :

- Les substances présentant un effet cryoprotecteur sont, dans l'ordre décroissant : acide éthylène diamine tétraacétique (EDTA), pyrophosphate, pyruvate et citrate.
- Le sorbitol et l'hexamétaphosphate n'ont aucun effet contre l'insolubilisation des protéines.
- Les combinaisons de cryoprotecteurs testées ne semblent pas avoir d'action synergique; l'insolubilisation des protéines est ralentie à la même vitesse que celle constatée pour le cryoprotecteur le plus performant du mélange.

Dans la pulpe, nous constatons que :

- Le sorbitol, seul ou en combinaison binaire et ternaire avec le pyrophosphate et le pyruvate, ralentit l'insolubilisation des protéines pendant les premières semaines.
- Le sorbitol, ainsi que l'EDTA en mélange avec le citrate ou le pyro

phosphate améliorent la capacité émulsifiante des protéines.

- Les mélanges pyruvate-pyrophosphate et sorbitol-pyruvate-pyrophosphate présentent un effet texturant.
- Contrairement aux résultats positifs in vitro, l'EDTA ne manifeste aucun pouvoir cryoprotecteur.

Les niveaux d'efficacité solutions musculaires-système pulpe sont différents; la pulpe est un système beaucoup plus complexe car les facteurs de dénaturation sont multipliés. Aussi, afin de vérifier l'influence de certains dénaturants, des essais d'addition dénaturant-cryoprotecteur sont réalisés dans des solutions de protéines musculaires. Les résultats sont les suivants :

- L'ion cuivrique à 0,005% est dénaturant même en présence du pyruvate et du pyrophosphate. Par contre, l'EDTA, en chélatant l'ion cuivrique, ralentit la vitesse d'insolubilisation des protéines.
- Le malonaldéhyde à 0,04% et le linoléate à 0,25% ne sont pas dénaturants.
- Le formaldéhyde (FA) à 0,01% tend à favoriser l'insolubilisation des protéines et, à 0,04%, il insolubilise très rapidement les protéines en présence ou non de cryoprotecteurs.

La mesure du FA dans la pulpe entreposée 4 mois à -18°C montre que le % formé est très supérieur à celui constaté dans les filets. De plus, nous remarquons que ce pourcentage est plus important lorsque l'EDTA ou, dans une moindre mesure, le pyruvate sont additionnés à la pulpe. L'action de l'EDTA sur la formation de FA a été montré par SPINELLI et col. (1979).

En conclusion, la combinaison sorbitol-pyruvate-pyrophosphate paraît intéressante et son étude mérite d'être approfondie. Les résultats obtenus in vitro sont difficilement transposables car la cryoprotection semble devenir inefficace dès que le FA est formé en quantité importante dans la pulpe. Ainsi l'évolution des qualités physicochimiques de la pulpe congelée est fortement conditionnée par la formation du FA et sa réaction avec les protéines musculaires.

I N T R O D U C T I O N

Dans le domaine des produits de la mer et plus particulièrement dans le cas de la production de cabillaud Gadus morhua, la France présente un déficit important. En effet, les importations nécessaires pour couvrir les besoins sont de l'ordre de 44400 tonnes en 1982, ce qui représente une part de 11,5% du déficit de la balance commerciale des produits de la mer qui totalise en 1982 4,9 milliards de francs. La participation du cabillaud n'est donc pas négligeable, aussi est-il indispensable d'optimiser au maximum les rendements en chair utilisable. Dans cette optique, il est apparu sur le marché industriel des machines desarêteuses qui permettent d'améliorer le rendement global grâce à la récupération possible de 6 à 10% de chair à partir des résidus de filetage par rapport au poisson entier.

Le procédé de la desarêteuse mécanique est fort simple : les résidus de filetage (arête centrale et V-cuts) ou les petits poissons étêtés et éviscérés sont comprimés contre un cylindre, le diamètre de ses perforations peut varier de 1,5 à 5 mm (BAADER 694). La chair pressée pénètre alors dans le cylindre alors que la peau et les arêtes demeurent à l'extérieur du tambour d'où ils sont éliminés par un couteau racléur. La chair de poisson se présente sous forme de pulpe, elle est évacuée du cylindre par une vis sans fin.

Cependant l'utilisation de la pulpe est pour l'instant limitée par des difficultés d'ordre bactériologique et chimique. La qualité bactériologique pourrait dans certaines conditions être acceptable (si le poisson n'a pas séjourné trop longtemps dans la glace, et si la récupération se fait à bord parallèlement à l'opération de filetage, effectuée dès la prise du poisson). La chair, lors de la récupération mécanique, perd son intégrité, sa qualité chimique diminue très rapidement durant la période nécessaire d'entreposage à l'état congelé

avant transformation sous forme de charcuteries de poisson, de croquettes...

A l'état natif, les protéines myofibrillaires sont sous forme d'un gel aqueux où les filaments de myosine sont parallèles aux filaments d'actine et de tropomyosine. Ce complexe myofibrillaire confère au muscle son extensibilité et sa contractibilité. Toutes les réactions de dénaturation provoquent une agrégation des protéines myofibrillaires par un changement des structures secondaire et tertiaire, la formation de ponts disulfures et l'intervention de liaisons ioniques, hydrogènes et hydrophobes.

CONNELL (1960 et 1962) a démontré sur des solutions d'actomyosine de cabillaud entreposées à -14°C que la perte de solubilité du complexe myofibrillaire est principalement due à la myosine. L'insolubilisation intervient, d'après RODGER et col. (1980) essentiellement durant les premières semaines d'entreposage congelé. Le taux de formation des agrégats de poids moléculaire élevé des solutions de myosine atteint, selon BUTTKUS (1970), son maximum vers le point eutectique (-11°C), alors qu'aux températures inférieures au point eutectique, lorsque seule l'eau liée demeure à l'état liquide, l'agrégation et donc l'insolubilisation diminuent pour atteindre pratiquement le taux observé à 0°C .

Ces phénomènes d'agrégation se traduisent au niveau de la qualité physico-chimique par une altération des propriétés fonctionnelles due à la perte de l'extractibilité et de la contractibilité de l'actomyosine. La dureté et la perte d'eau à la cuisson augmentent tandis que, selon GRABOWSKA et SIKORSKY (1974), la solubilité et la capacité émulsifiante des protéines myofibrillaires diminuent, ainsi que la capacité gélifiante et l'activité ATPasique.

Le phénomène de la dénaturation est dû principalement à 4 types de causes :

* Réactions avec les groupements sulfhydrides

BUTTKUS (1970) a proposé un mécanisme expliquant l'agrégation de la myosine aux températures de congélation. Il est basé sur les réactions

d'échange disulfure-sulfhydrile initiées par l'oxydation de quelques groupes SH. La formation de ponts disulfures est suivie par un réarrangement des liaisons hydrophobes et hydrogènes.

* Réaction avec les produits d'oxydation des lipides

KING et col. (1962) ont montré que l'importance de l'insolubilisation des protéines dépend de la nature de l'acide gras, de la concentration et de la durée d'entreposage.

* Réaction avec le formaldéhyde

Le formaldéhyde est formé à partir du clivage enzymatique ou non de l'oxyde de triméthylamine (l'enzyme responsable du clivage est présente en quantité importante dans la rate chez le cabillaud). Selon LAIRDE, MACKIE et HATTULA (1980), la perte de solubilité des protéines est due à la formation de ponts covalents entre un groupe aminé comme la lysine et le formaldéhyde. POULTER et LAWRIE (1979) suggèrent que, non seulement les protéines myofibrillaires mais aussi les protéines sarcoplasmiques peuvent être rendues insolubles par le formaldéhyde durant l'entreposage.

* Effet de l'augmentation de la concentration en sels

Lors de la congélation, la concentration en sels dans les tissus augmente; les solutés du liquide interstitiel et du protoplasme se concentrent dans une phase liquide résiduelle. Les sels inorganiques affectent la qualité des protéines en abaissant le point de congélation en déshydratant, en agissant sur la tension interfaciale et sur les groupements chargés des chaînes latérales, par des interactions ioniques.

Aussi à cause du phénomène de dénaturation et malgré l'intérêt de la récupération de chair à partir des chutes de filetage, la pulpe est encore une matière première peu utilisée à une exception près : le Japon. En effet, les Japonais sont les plus gros producteurs de chair hachée (à partir des filets) avec plus de 350000 tonnes en 1981. Ils fabriquent le surimi, matière première semi-préparée et congelée, destinée à l'élaboration du kamaboko dont les préparations culinaires sont

aussi nombreuses que variées. Le surimi est obtenu par étêtage, éviscération, récupération mécanique, lavage intensif et élimination de l'excès d'eau de la chair puis, addition de sucres, polyalcools et/ou de polyphosphates.

Dans la seconde phase de préparation du surimi, les Japonais emploient en particulier contre la dénaturation des protéines, des substances appelées cryoprotecteurs qui ralentiraient, retarderaient ou inhiberaient partiellement la dénaturation. Parmi les plus étudiées figurent :

* Les polyphosphates

D'après BROTSKY et SCHWARTZ (1980), les polyphosphates agissent en chélatant différents cations qui catalysent l'agrégation des protéines et en affectant la structure des protéines gélifiantes. Les polyphosphates augmentent la force ionique, les forces de répulsion et d'hydratation et par conséquent les quantités d'eau liée aux protéines.

* Les acides aminés et les peptides

L'augmentation de l'effet cryoprotecteur des acides aminés par acétylation des groupes aminés semble indiquer, selon NOGUCHI et MATSUMOTO (1975^a), la contribution des oxogroupes de la liaison peptidique à l'effet préventif de ces substances.

* Les céto-acides

D'après les travaux de TRANX (1974 et 1975), le pyruvate, en formant une base de Schiff avec les protéines, augmente la charge nette négative des protéines en apportant un groupement carboxylique et diminue donc l'agrégation par l'augmentation des forces électrostatiques.

* Les polyalcools et les sucres

Les modes d'action sont multiples. Le sucrose par exemple, agit au niveau de la membrane extérieure des cellules en facilitant la diffusion des électrolytes et d'une partie des dénaturants, favorisant ainsi leur dilution.

Mais en Europe et aux Etats-Unis, l'exemple japonais ne peut être transposé car les produits, d'une part ne nécessitent pas l'utilisa-

tion d'une matière première aussi élaborée que le surimi et, d'autre part ils ne peuvent supporter le prix de revient élevé du surimi. Des problèmes d'équipement interviennent également. En effet, l'élaboration du surimi nécessite l'emploi d'eau douce pour le lavage de la pulpe, or les bateaux français ne disposent pas de réserves d'eau suffisantes pour cet emploi. De plus, la perte de protéines sarcoplasmiques éliminées par le lavage diminue d'autant le rendement de récupération en chair.

Pour pallier le problème de dénaturation, l'addition de cryoprotecteurs dans la pulpe non lavée avant congélation a été testée en particulier dans les pays occidentaux.

TRAN et HAN-CHING (1981) ont établi que le sorbitol est cryoprotecteur dans la pulpe non lavée, mais des concentrations de 3% ne peuvent retarder la dénaturation complète des protéines que de quelques semaines. Un mélange de 0,3% d'acides citrique et ascorbique et de 0,7% de polyphosphates et d'EDTA limiterait la dénaturation selon MOLEDINA et col. (1977). TRAN (1974) note que le pyruvate est également cryoprotecteur, a un effet texturisant et facilite la rétention d'eau. RODGER et col. (1980) constatent que l'emploi d'additifs tels que le lactose, le glutamate et le citrate de sodium ne présente qu'une amélioration minime pour préserver les propriétés fonctionnelles de la pulpe de cabillaud non lavée.

Mais en général, le niveau de cryoprotection obtenu sur la pulpe non lavée est toujours inférieur à celui obtenu dans un système type surimi. Aussi, afin de profiter des divers mécanismes d'action de chaque agent, il a paru intéressant de tester des mélanges de substances cryoprotectrices.

Le sujet de ce mémoire est donc l'étude de combinaisons de cryoprotecteurs dans la pulpe non lavée récupérée à partir des arêtes centrales de cabillaud. Nous serons amenés à classer les mélanges par leur effet cryoprotecteur en effectuant des essais in vitro dans des solutions de protéines musculaires, puis dans la pulpe.

M A T E R I E L S E T M E T H O D E S

1)- Substances chimiques utilisées

1-1)- En tant que cryoprotecteur

<u>Substances chimiques :</u>	<u>Origine :</u>	<u>% (g/100g de pulpe) :</u>
Sirop de glucose (Flolyls R-43 FAS)	ROQUETTE	3
Sorbitol (Neosorb 20/60)	ROQUETTE	3
Maltodextrines MD05 et MD01	ROQUETTE	5
Pyruvate de sodium	MERCK	0,5
Citrate de trisodium	MERCK	0,5
Glutamate de sodium	MERCK	0,5
Pyrophosphate de sodium	MERCK	0,5
Héxamétaphosphate	MERCK	0,5
Acide éthylène diamine tétraacétique EDTA	ALDRICH	0,15

1-2)- En tant que dénaturant

<u>Substances chimiques:</u>	<u>Origine :</u>	<u>% (g/100g de pulpe) :</u>
Formaldéhyde en solution à 37%	MERCK	0,01 et 0,04
Malonaldéhyde	MERCK	0,04
Sulfate cuivrique	MERCK	0,005
Méthyl linoléate	MERCK	0,25

2)- Essais in vitro

2-1)- Préparation des échantillons

Les extraits de protéines musculaires sont obtenus en broyant 20g de cabillaud préalablement hachés (prélevés dans le filet coté caudale) dans 200 ml d'une solution de NaCl à 5% (force ionique = 0,86). Le broyage est réalisé à l'aide d'un broyeur WARING à ceinture réfrigérée et muni d'un plateau anti-mousse, pendant 1 min.

Le broyat est ensuite centrifugé à 2500 trs/min. pendant 30 min.

1,5 ml du surnageant est additionné à 0,5 ml d'une solution de

cryoprotecteur(s). Dans le cas de l'addition de dénaturant, 0,25 ml d'une solution de dénaturant est ajouté à 1,5 ml du surnageant et à 0,25 ml d'une solution de cryoprotecteur. Sauf lorsque le dénaturant est le linoléate; il est émulsionné à une quantité connue d'extrait, puis 1,5 ml est prélevé et additionné à 0,5 ml d'une solution de cryoprotecteur.

Les 2 ml sont congelés dans des tubes à hémolyse et stockés à -20°

L'indice de solubilité est mesuré périodiquement (pendant 4 à 8 semaines) sur les échantillons décongelés rapidement sous l'eau courante.

2-2)- Mesure de l'indice de solubilité des protéines

D'après HEDA et col. (1962)

Les 2 ml d'échantillon sont dilués avec 4 ml d'une solution de NaCl à 5% puis centrifugés à 2500 trs/min. pendant 30 min.

1 ml de surnageant est dilué avec 4 ml d'une solution de NaCl à 5%

On mesure la densité optique à 275 nm.

L'indice de solubilité des protéines musculaires solubles dans les solutions salines est exprimé en unité de densité optique.

3)- Essais dans la pulpe

3-1)- Préparation des échantillons

La pulpe est récupérée à partir d'arêtes centrales de cabillaud préalablement brossées et lavée à l'eau courante afin d'éliminer du mieux possible les résidus de rate (où se trouve localisée une grande partie de l'enzyme responsable du clivage de l'oxyde de triméthylamine en formaldéhyde et en diméthylamine) et les protéines sanguines (riches en fer), par passage dans la desarêteuse BAADER 694 à travers un cylindre dont les perforations ont un diamètre de 5 mm.

Les échantillons témoins sont congelés immédiatement après la séparation mécanique.

Pour les autres échantillons, les cryoprotecteurs, en solution à raison de 100 ml par kg de pulpe, sont mélangés à la pulpe pendant 5

min. dans un pétrin de type charcuterie.

La pulpe est répartie dans des barquettes plastiques de 200g munie d'un couvercle.

La congélation se fait dans un congélateur à plaques à -30°C pendant $1^{\text{h}}30$. la pulpe est entreposée en chambre froide à -18°C .

3-2)- Mesures

Les mesures se font ^{sur} des échantillons décongelés 24^{h} à $+4^{\circ}\text{C}$.

3-2-a)- Mesure de l'indice de solubilité

3g de pulpe sont broyés avec 120 ml d'une solution de NaCl à 5% dans un broyeur à ceinture réfrigérée puis centrifugés à 2500 trs/min. pendant 30 min. à $+4^{\circ}\text{C}$ (centrifugeuse CENTRIKON H-401).

1 ml du surnageant est dilué à 4 ml d'une solution de NaCl à 5%. On mesure la densité optique de cette solution à 275 nm.

L'indice de solubilité est exprimé en unité de densité optique.

3-2-b)- Mesure de la capacité émulsifiante des protéines

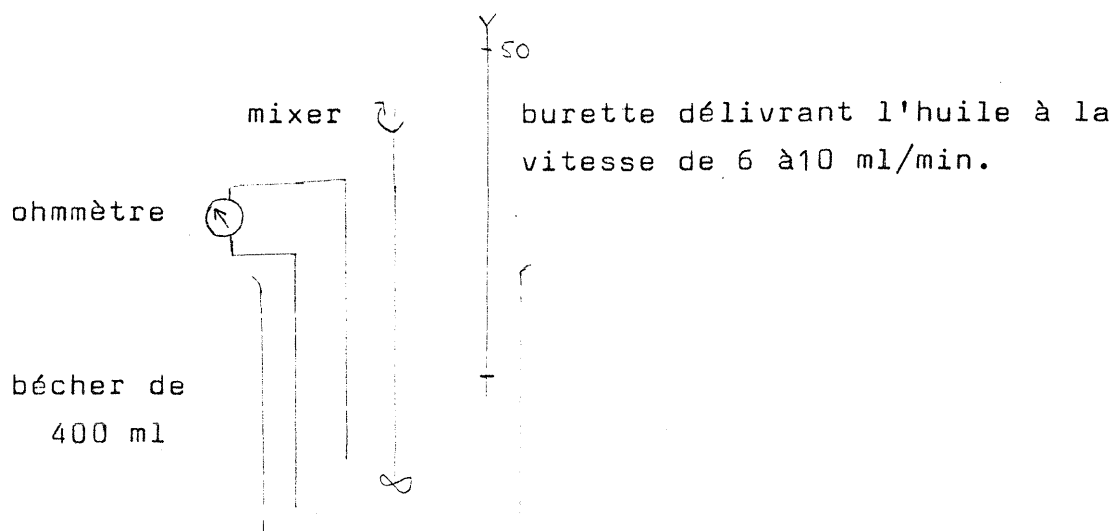
La mesure se fait d'après le principe décrit par SWIFT et col. (1961) sur un extrait de protéines musculaires : 5g de pulpe sont broyés avec 150 ml d'une solution de NaCl à 5% à $+4^{\circ}\text{C}$ puis centrifugés à 2500 trs/min., 30 min à $+4^{\circ}\text{C}$.

5 ml de l'extrait sont dilués avec 50 ml d'une solution de NaCl à 5% à environ $+20^{\circ}\text{C}$ dans un bécher de 400 ml.

L'émulsion est réalisée, suivant le schéma ci-dessous, à l'aide d'un mixeur ULTRA TURRAX fonctionnant à vitesse maximum (environ 20000 upm) en additionnant tout d'abord rapidement 20 ml d'huile (huile végétale colza-soya) aux 55 ml de phase aqueuse. L'huile s'écoule ensuite dans le bécher à raison de 6 à 10 ml/min. à l'aide d'une burette de 50 ml.

Le moment où le maximum d'huile émulsionnée est atteint, est déterminé par la mesure de la résistance électrique du milieu réactionnel suivie par un ohmmètre (selon WEBB et col. (1970); GRABOWSKA et SIKORSKI (1974)).

Les résultats sont exprimés en ml d'huile émulsionnée par g de pulpe.



Dispositif expérimental

3-2-c)- Mesure de l'indice texturométrique

20g de pulpe sont tassés de façon uniforme dans un bécher de 25 ml. La cuisson se fait à la vapeur pendant 20 min. Une fois égouttés et séchés, les échantillons sont soumis à un test de compression en utilisant le texturomètre JJ LOYD T 5001 dans les conditions suivantes :

- jauge de contrainte de 5000 N
- sensibilité de la jauge de contrainte X 0,04
- vitesse de la tête mobile = 200 mm/min.
- rapport papier/tête mobile = 2,5/1

L'indice texturométrique est défini ainsi :

avec : M' = masse de l'échantillon après cuisson

$$\frac{M'}{F^{1/2} L_0 (1 + \frac{2}{M'})}$$

$F^{1/2}$ = force appliquée à mi-hauteur de l'échantillon

L_0 = hauteur initiale de l'échantillon

(La démonstration de la formule établie par NECIBI (1982) figure en annexe)

3-2-d)- Mesure du pourcentage de diméthylamine (DMA)

La méthode de dosage utilisée est celle décrite par DYER et MONNSEY (1945).

50g de pulpe sont broyés pendant 1 min. avec 50 ml d'eau distillée et 100 ml d'acide trichloroacétique. Après filtration, une partie ali-

quote d'extrait est diluée à 10 ml, on y ajoute 1 ml du réactif cuivre réalisé comme ci-après et 10 ml d'une solution de sulfure de carbone à 10% dans le benzène. Après agitation, la réaction colorimétrique se fait au bain-marie à 40-50°C pendant 5 min.

1 ml d'acide acétique à 30% est additionné. Le mélange est très fortement agité. Après décantation, la phase benzène est séchée avec environ 0,4g de sulfate de sodium anhydre et sa densité optique à 440 nm est mesurée.

Les résultats sont exprimés en pourcentage de diméthylamine dans la pulpe en g/100g.

Réactif cuivre : 20g d'acétate d'ammonium
0,2g de sulfate de cuivre
30 ml d'eau distillée
10g d'hydroxyde de sodium dans 25 ml d'eau dist-
20 ml d'hydroxyde de sodium
amener à 100 ml

R E S U L T A T S E T D I S C U S S I O N

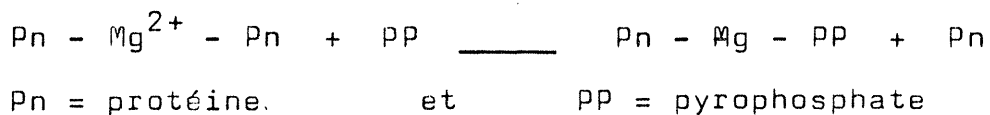
Nous avons choisi de travailler sur des solutions de protéines musculaires pour transposer plus facilement les résultats obtenus in vitro à la pulpe non lavée.

Le degré de dénaturation est évalué par l'indice de solubilité. L'insolubilisation des protéines est très rapide au cours du temps, ainsi l'indice de solubilité constitue un indicateur très sensible.

Dans les conditions utilisées, l'héxamétaphosphate et le sorbitol ainsi que leur combinaison, ne ralentissent pas la vitesse d'insolubilisation des protéines contrairement aux résultats concernant le sorbitol établis par NOGUCHI et MATSUMOTO (1976). Mais ces résultats ne sont pas tout à fait comparables : en effet, les Japonais travaillent sur des systèmes surimi (la pulpe est lavée intensivement; les protéines sarcoplasmiques ainsi qu'une partie des enzymes et de l'oxyde de triméthylamine sont en partie éliminées) et utilisent pour leurs essais in vitro des solutions d'actomyosine.

Dans nos essais (Tableau I), l'EDTA montre par contre un effet cryoprotecteur très marqué que NOGUCHI et MATSUMOTO (1971), TRAN et HAN-CHING (1981) avaient déjà noté.

De même, le pyrophosphate ralentit la vitesse d'insolubilisation des protéines. Le pyrophosphate, d'après HAMM (1971) chélate les ions Mg^{2+} selon le schéma suivant :



Il tend à rompre les liaisons intermoléculaires entre les protéines et augmente ainsi la capacité de rétention d'eau. L'action du pyrophosphate a été largement démontrée par de nombreux auteurs depuis HAMM.

Aussi, malgré son pouvoir cryoprotecteur apparemment inexistant, l'héxamétaphosphate reste intéressant dans l'optique d'un emploi pour

un entreposage prolongé puisqu'il peut donner par hydrolyse du pyrophosphate.

Le citrate ralentit très faiblement la vitesse d'insolubilisation des protéines.

Le pyruvate (Tableau II) est également cryoprotecteur pour les protéines en solution. TRAN (1974) l'avait déjà souligné lors d'essais sur des homogénats de cabillaud.

Toutes les combinaisons testées ne montrent pas d'effet apparent de synergisme puisque l'indice de solubilité des mélanges est voisin de celui du cryoprotecteur le plus fort du mélange. Mais le niveau de cryoprotection est peut-être le maximum atteint dans ces conditions. Il faudrait tester si, par exemple, la combinaison pyruvate-pyrophosphate améliore l'indice de solubilité.

Au regard de ces résultats où seuls, l'EDTA, le pyrophosphate et le pyruvate semblent cryoprotecteurs dans les solutions de protéines musculaires, nous avons envisagé certaines combinaisons dans la pulpe

Sur les graphiques de la fig.1, l'indice de solubilité des protéines dans la pulpe diminue rapidement dès la deuxième semaine d'entreposage. L'indice de solubilité est un bon indicateur pour déterminer la durée de vie du produit et, même s'il atteint des valeurs faibles très rapidement, du moins indique-t-il pendant les premières semaines la tendance des agents cryoprotecteurs à ralentir plus ou moins la vitesse d'insolubilisation des protéines. Il faut souligner que le fait d'ajouter des cryoprotecteurs (à raison de 100 ml/kg de pulpe) "dilue" les protéines et ainsi diminue d'autant l'indice de solubilité par rapport aux échantillons-témoins. Le niveau des cryoprotecteurs des échantillons est donc en réalité plus élevé que celui mesuré.

Seul le sorbitol ou le mélange sorbitol-pyruvate ou pyrophosphate ou le mélange ternaire semblent ralentir la vitesse d'insolubilisation des protéines. Le sorbitol, en augmentant la phase liquide résiduelle limite la dénaturation des protéines dans la pulpe, alors que dans un

système tel que les solutions musculaires où les protéines sont diluées et en solution, le sorbitol ne paraît pas agir.

NOGUCHI et MATSUMOTO (1975^C & 1976) ont beaucoup étudié le sorbitol dans le surimi, et ils ont constaté que le sorbitol à 2% est cryoprotecteur, en particulier en combinaison avec les acides carboxyliques et les acides aminés.

D'après la fig.2, le sorbitol semble améliorer également la capacité émulsifiante des protéines. Le pyruvate, ainsi que les mélanges EDTA-pyrophosphate et EDTA-citrate maintiennent également une capacité émulsifiante supérieure à celle des témoins.

La mesure de la capacité émulsifiante est en partie fonction de la solubilité des protéines puisqu'elle se fait sur un extrait des protéines musculaires solubles dans les solutions salines. Aussi, le résultat obtenu pour le sorbitol n'est pas surprenant puisque le sorbitol ralentit l'insolubilisation des protéines dans la pulpe.

Le citrate et le pyrophosphate sont des chélatants et des émulsifiants reconnus et utilisés dans l'industrie alimentaire (Principles of Food Science), mais curieusement ils semblent n'être efficaces qu'en présence de l'EDTA dans nos essais. Nous pouvons faire l'hypothèse suivante : l'EDTA étant un puissant chélatant, les ions inorganiques de la pulpe seraient complexés préférentiellement par l'EDTA; le citrate ou le pyrophosphate resteraient alors non complexés et auraient un pouvoir émulsifiant qu'ils n'auraient peut-être pas s'ils étaient à l'état de complexes.

Seuls les mélanges (figure 3) pyruvate-pyrophosphate et sorbitol-pyruvate-pyrophosphate améliorent l'indice texturométrique par rapport au témoin. TRAN (1975) note l'effet texturisant du pyruvate dans la pulpe. L'augmentation de la capacité gélifiante et de rétention d'eau des protéines par les polyphosphates est bien connue. Ici, la combinaison pyruvate-pyrophosphate paraît intéressante par rapport au pyruvate ou au pyrophosphate employés seuls.

En résumé :

- Le sorbitol, seul ou en combinaison binaire et ternaire avec le pyrophosphate et le pyruvate ralentit la vitesse d'insolubilisation des protéines.

- Le sorbitol et les combinaisons EDTA-citrate et EDTA-pyrophosphate semblent augmenter la capacité émulsifiante des protéines.

- Seuls les mélanges pyruvate-pyrophosphate et sorbitol-pyruvate-pyrophosphate paraissent améliorer la texture de la pulpe après cuisson.

En conclusion, les combinaisons mettant en jeu le sorbitol, le pyrophosphate et le pyruvate semblent intéressantes et méritent d'être approfondies.

Nous constatons que le niveau de cryoprotection dans la pulpe est nettement plus bas que dans les solutions musculaires. Les résultats in vitro ne sont donc pas toujours transposables à un système complexe tel que la pulpe car tous les facteurs, en particulier ceux de dénaturation ne sont pas intégrés dans les solutions in vitro.

Aussi, avons-nous réalisé de nouveaux essais in vitro en étudiant l'effet de l'addition de quatre types de dénaturant :

- un ion métallique, l'ion cuivrique;
- un acide gras, le linoléate;
- le malonaldéhyde, produit d'oxydation des acides gras poly-insaturés;
- le formaldéhyde, produit d'hydrolyse de l'oxyde de triméthylamine.

L'ion cuivrique à 0,005% (Tableau III) accélère dès les premières semaines l'insolubilisation des protéines. CASTELL et col. (1970) ont constaté que 10 à 50 ppm. (0,001 à 0,005%) d'ions métalliques, en particulier Cu^{2+} , Cr^{2+} , Sn^{2+} , Cd^{2+} causent une rapide diminution de la solubilité des protéines dans des homogénats de muscle de poisson.

Le pyrophosphate et le pyruvate ne montrent aucun effet cryoprotecteur contre l'action dénaturante du cuivre alors que l'EDTA en chélatant les ions cuivriques retarde l'insolubilisation des protéines.

Signalons que la concentration normale en cuivre dans le cabillaud entier est environ 0,7 à 1 mg/kg; il serait intéressant de connaître les teneurs dans la pulpe en fonction du mode de récupération.

Le linoléate à 0,25% et du malonaldéhyde à 0,04% ne sont pas dénaturants dans les conditions utilisées. HANSON et OLLEY (1965) ont constaté que les effets immédiats des acides gras libres sur les protéines sont obtenus seulement aux pH alcalins de 7,2 alors qu'à 6,4 - 6,8, le Na-linoléate ou l'acide linoléique ne causent pas de précipitation immédiate des protéines dans les homogénats de cabillaud. Tandis que JARENBACK et LILJEMARK (1975) notent que la présence d'environ 8 micromoles d'acide linoléique par g de muscle (environ 0,24%) provoque une baisse de 90% de la quantité de protéines solubles dans les solutions de myofibrilles. Il est possible que la présence des protéines sarcoplasmiques contribue à diminuer l'action dénaturante des acides gras.

L'effet dénaturant du formaldéhyde à 0,01% (figure 4) n'est pas très marqué. Cependant une certaine tendance à l'insolubilisation apparaît vers la 8^{ème} semaine. Par ailleurs OHNISHI et RODGER (1980) ont constaté que le formaldéhyde est dénaturant à 0,005% dès la première semaine dans des extraits de protéines myofibrillaires stockés à -29°C. De plus, ils ont établi que plus la concentration en formaldéhyde, plus la perte de solubilité est importante.

Par contre, nous constatons que le formaldéhyde à 0,04% (figure 5 tableaux III et IV) insolubilise rapidement les protéines des solutions musculaires, qu'il y ait ou non des cryoprotecteurs.

SIKORSKI et col. (1975) ont trouvé que l'addition de 80mg de formaldéhyde pour 100g de protéines à la chair hachée de cabillaud réduit l'extractibilité des protéines myofibrillaires de 40% après 1 heure à +2°C; environ 80% du formaldéhyde ajouté ne sont pas retrouvés après 10 jours à -20°C.

CHILDS (1973) a étudié l'interaction du formaldéhyde avec les protéines musculaires de poisson in vitro. Dans ses essais, 0,2% de for-

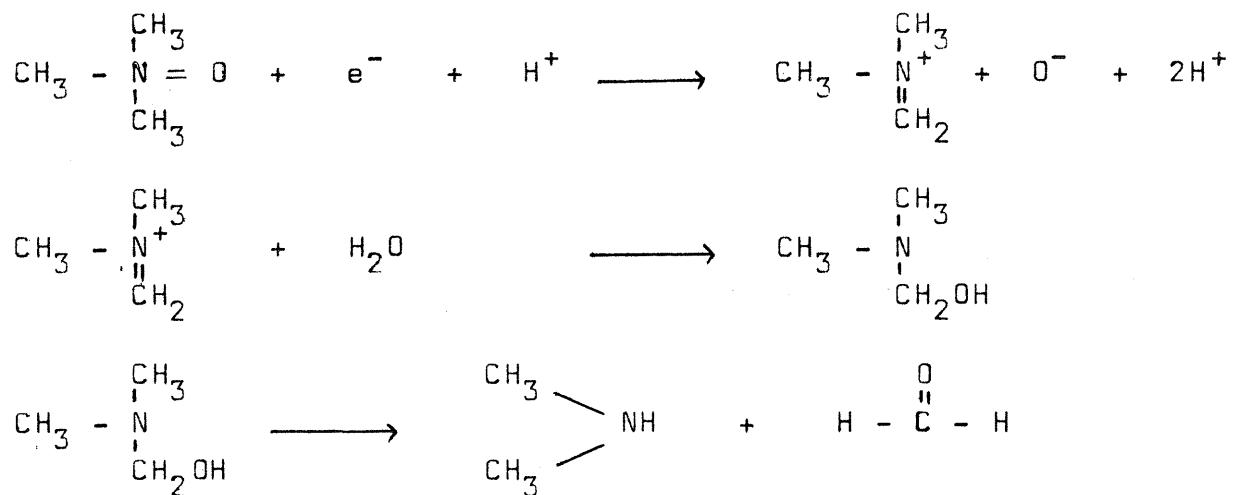
maldéhyde est nécessaire pour observer la même diminution de l'extractibilité des protéines que dans les travaux de BABBITT et col. où, rappelle-t-il, 0,003% de formaldéhyde dans la pulpe suffit. Ces résultats suggèrent, toujours d'après CHILDS, que le formaldéhyde a peu d'effet sur la perte d'extractibilité dans la pulpe (la perte de solubilité n'est pas due alors au formaldéhyde) ou alors que le formaldéhyde est plus efficace en tant que dénaturant dans la pulpe que dans les solutions de protéines.

Ainsi, les différences de niveaux de cryoprotection observées entre les essais de combinaison des cryoprotecteurs in vitro et dans la pulpe sont probablement en partie dues à la réaction des protéines avec le formaldéhyde. DRAPER et col. (1966) notent qu'approximativement 62% de la variation totale de l'extractibilité peuvent être imputés au formaldéhyde.

Afin d'apprécier indirectement la formation de formaldéhyde dans la pulpe, nous avons mesuré le pourcentage de diméthylamine dans la pulpe additionnée des cryoprotecteurs et des mélanges de cryoprotecteurs et entreposée 4 mois à -18°C (le clivage de l'oxyde de triméthylamine donne en quantité stoechiométrique le formaldéhyde et la diméthylamine). Les pourcentages de formaldéhyde sont calculés à partir des pourcentages de diméthylamine et sont donnés en g/100g. Les résultats sont réunis dans les tableaux V à VIII.

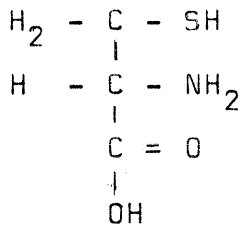
Les pourcentages de formaldéhyde formé sont très importants par rapport à ceux constatés dans les filets de cabillaud (par exemple, les analyses des filets conservés 1 an à -30°C à l'I.S.T.P.M. donnent en général des concentrations voisines de 0,001%). MACKIE et THOMPSON (1974) ont trouvé de même que, la décomposition de l'oxyde de triméthylamine est en moyenne dix fois plus importante dans la pulpe de cabillaud récupérée à partir des résidus de filetage et stockée à -15°C que dans les filets intacts. Ils ont montré également que l'accumulation de formaldéhyde est nettement moins élevée dans la pulpe lavée que dans la pulpe brute.

Curieusement, l'EDTA qui montre un pouvoir très cryoprotecteur dans les solutions de protéines musculaires favorise ici la formation de diméthylamine dans la pulpe. Cette remarque s'applique également aux mélanges avec l'EDTA et peut alors expliquer en partie les différences observées entre les résultats in vivo et in vitro. SPINELLI et KOURY (1979) notent que l'EDTA et le fer ferreux accélèrent la formation de diméthylamine dans les homogénats (les différences de teneurs en diméthylamine observées pour les échantillons témoins entre les séries seraient peut-être dues en partie à la teneur initiale en Fe^{2+} dans la pulpe). Ces auteurs ont proposé un mécanisme de formation du formaldéhyde lorsque l'EDTA et le fer sont additionnés ensemble : la configuration moléculaire du fer n'interviendrait pas mais la réaction serait plutôt due au fait que la chélation du fer ferreux par l'EDTA augmente le potentiel d'oxydo-réduction de $-0,77V$ à $+0,10V$ et libère l'électron. Si l'oxyde de triméthylamine agit comme un récepteur d'électron, la diméthylamine peut être formée par voie non enzymatique comme le schéma réactionnel ci-dessous :

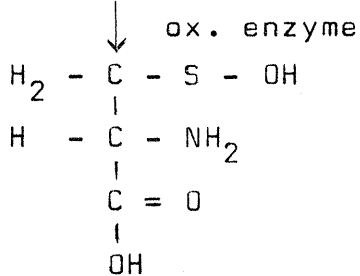


KELLEHER et col. remarquent que le taux de formation de la diméthylamine est significativement plus important dans la pulpe ayant été trempée dans un bain de polyphosphates que dans le témoin. Or, contrairement à ces résultats, la teneur en diméthylamine dans la pulpe additionnée dans nos essais d'héxamétaphosphate et de pyrophosphate est très voisine de celle du témoin.

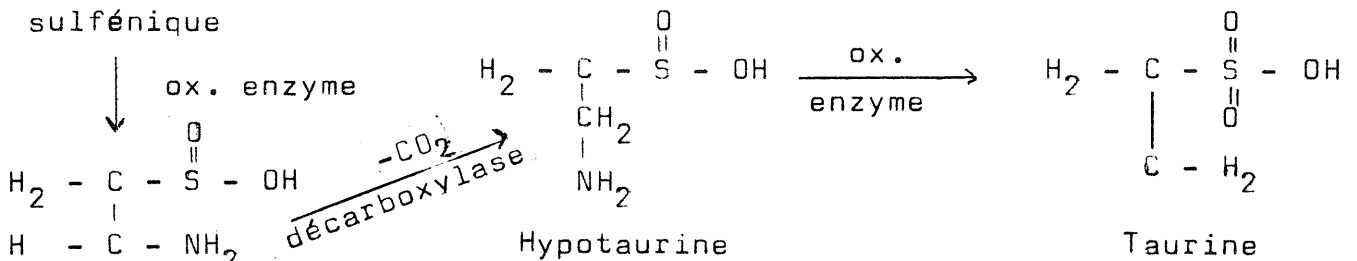
Le pyruvate semble favoriser comme l'EDTA, la formation de diméthylamine. Dans l'état actuel des connaissances, nous ne pouvons pas encore l'expliquer. SPINELLI et KOURY (1981) ont proposé un schéma de formation de la diméthylamine par les catabolites de la cystéine qui réagissent avec l'oxyde de triméthylamine; schéma dans lequel le pyruvate est indirectement impliqué.



Cystéine

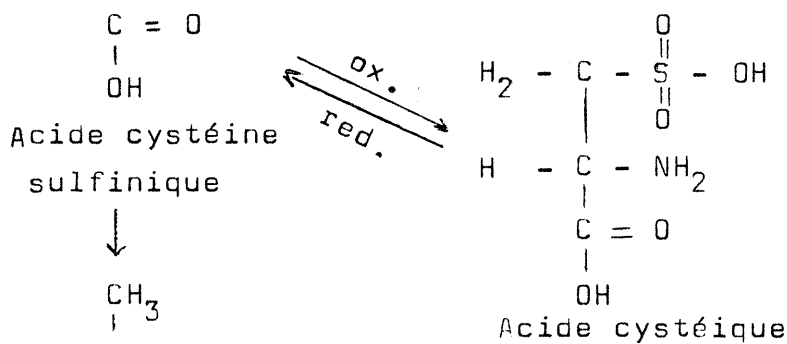


Acide cystéine
sulfénique



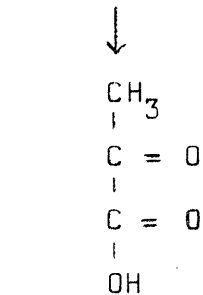
Hypotaurine

Taurine



Acide cystéique

Acide cystéine
sulfinique



Acide pyruvique

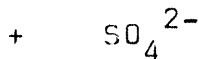


Schéma du catabolisme de la cystéine

Ainsi, des substances telles que l'EDTA et le pyruvate qui étaient cryoprotecteurs dans les essais in vitro, potentialisent en fait la

formation de formaldéhyde. Les résultats pour les essais de combinaisons in vitro sont donc difficilement transposables. L'élimination de l'oxyde de triméthylamine et d'une partie des enzymes en même temps que les protéines sarcoplasmiques lors du lavage intensif de la pulpe par les Japonais peut expliquer en partie la différence d'efficacité de cryoprotection entre les résultats japonais et les résultats obtenus pour la pulpe non lavée.

C O N C L U S I O N

L'EDTA, le pyrophosphate, le pyruvate et dans une moindre mesure le citrate, ralentissent la vitesse d'insolubilisation des protéines en solution de façon significative; dans les conditions utilisées de ce système modèle, les mélanges de substances n'ont pas fait apparaître une amélioration de la cryoprotection qui était déjà très appréciable en présence d'un cryoprotecteur unique.

Dans la chair hachée, certains mélanges mettant en jeu le sorbitol le pyruvate et le pyrophosphate paraissent intéressants pour diminuer la vitesse d'insolubilisation des protéines, pour augmenter la capacité émulsifiante et améliorer la texture de la pulpe; ils méritent d'être l'objet d'études plus approfondies.

Le niveau de cryoprotection est très inférieur dans la pulpe par rapport aux solutions musculaires. Cette différence est vraisemblablement due à la formation importante de formaldéhyde dans la pulpe. De plus, certains agents comme l'EDTA et le pyruvate semblent favoriser plus ou moins cette formation.

Les cryoprotecteurs sont pratiquement inefficaces en présence de formaldéhyde ajouté (0,04%) en solution, et probablement dès que le formaldéhyde est formé en quantité suffisante dans la pulpe.

TOKUNOGA (1974) a constaté que le clivage de l'oxyde de triméthylamine en formaldéhyde est inexistant à -40°C. Une des solutions pour préserver la pulpe de l'action dénaturante du formaldéhyde serait alors de l'entreposer à basse température, mais c'est une voie peu envisageable du point de vue économique.

La connaissance approfondie du mécanisme de formation du formaldéhyde permettrait peut-être d'envisager l'emploi de substances qui seraient capables d'inhiber partiellement, de ralentir ou de retarder la formation de ce puissant dénaturant.

TABLEAU I - Indice de solubilité des solutions de protéines musculaires additionnées de un ou plusieurs cryoprotecteurs.

SEMAINES ADDITIFS	SEMAINES			
	1	2	3	4
Témoin	0,99	0,76	0,51	0,37
Sorbitol	0,96	0,79	0,48	0,40
Citrate	1,04	0,71	0,55	0,42
Héxamétaphosphate	0,96	0,65	0,40	0,35
Pyrophosphate	1,02	0,82	0,72	0,74
EDTA	1,07	0,97	0,89	0,86
Sorbitol + citrate	1,02	0,79	0,61	0,42
Sorbitol + EDTA	1,18	0,93	0,89	0,90
Sorbitol + héxa.	0,99	0,83	0,45	0,35
Sorbitol + pyro.	1,00	0,87	0,70	0,66
Sorb. + cit. + EDTA	1,02	0,93	0,97	0,92
Sorb. + cit. + héxa.	1,01	0,78	0,57	0,43
Sorb. + pyro. + EDTA	1,03	0,98	0,89	0,94

TABLEAU II - Indice de solubilité des solutions de protéines musculaires additionnées de un ou plusieurs cryoprotecteurs et entreposées à - 20°C.

ADDITIFS	SEMAINES			
	1	2	4	6
Témoin	0,82	0,79	0,46	0,36
Sorbitol	0,88	0,79	0,51	0,37
Pyruvate	0,82	0,83	0,75	0,49
EDTA	0,95	0,87	0,81	0,87
Héxamétaphosphate	0,86	0,75	0,42	0,38
Sorb. + pyruvate	0,97	-	0,84	0,88
Sorb. + héxaméta.	0,95	0,90	0,88	0,89
Sorb. + pyru. + EDTA	0,95	0,90	0,88	0,89
Sorb. + pyru. + héx.	0,84	0,80	0,76	0,58

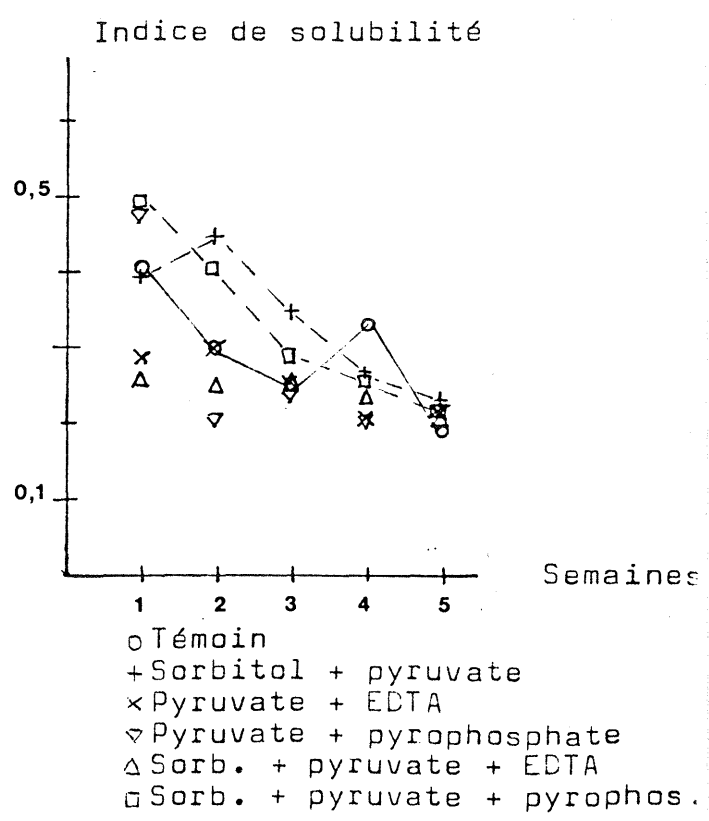
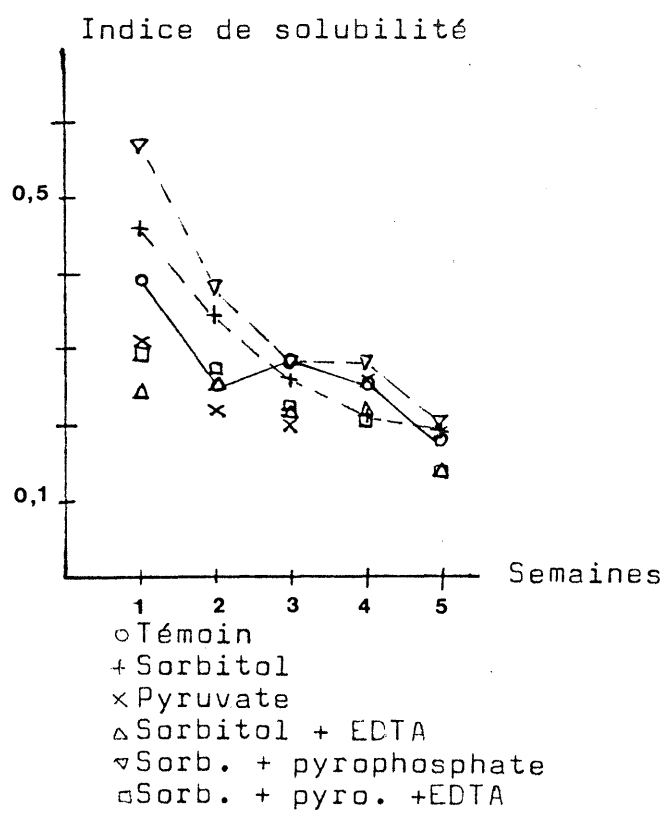
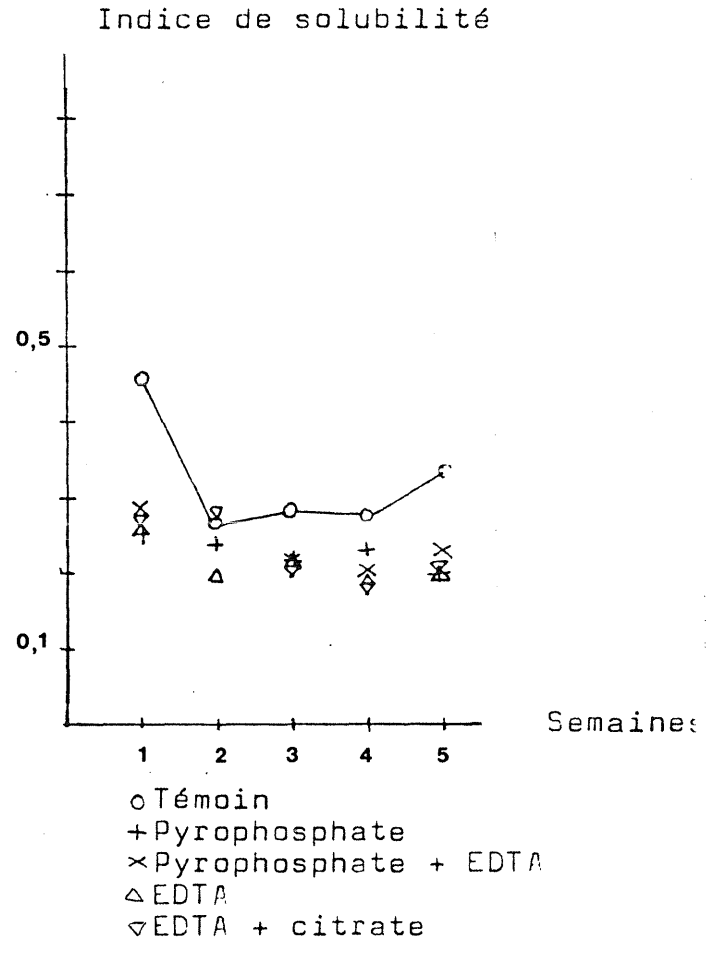
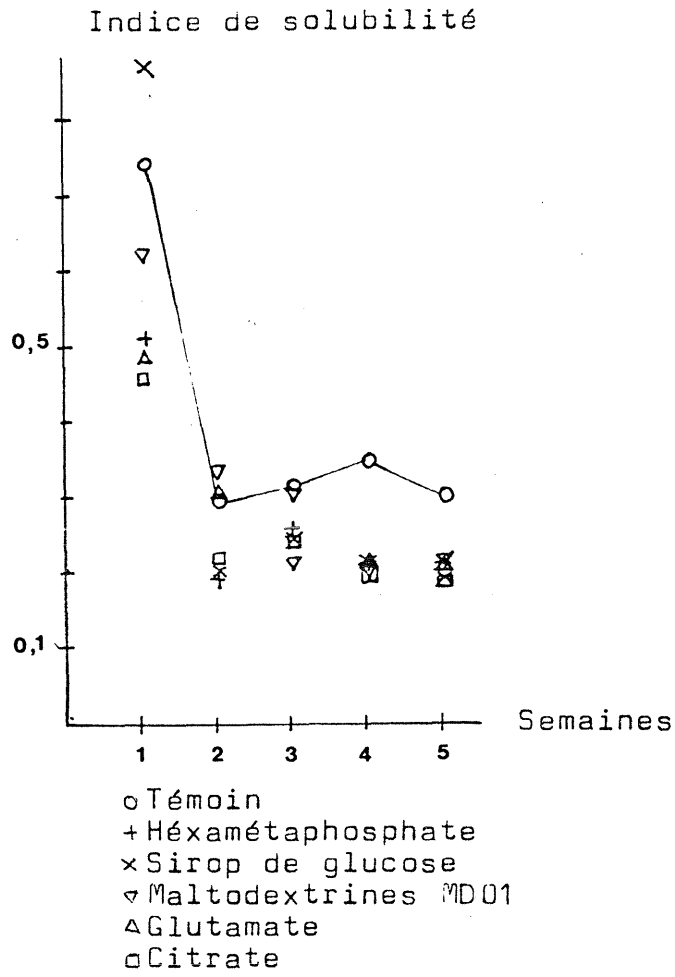


FIGURE 1 - Indice de solubilité des protéines de la pulpe de cabillaud additionnée de cryoprotecteurs et stockée à -18°C.

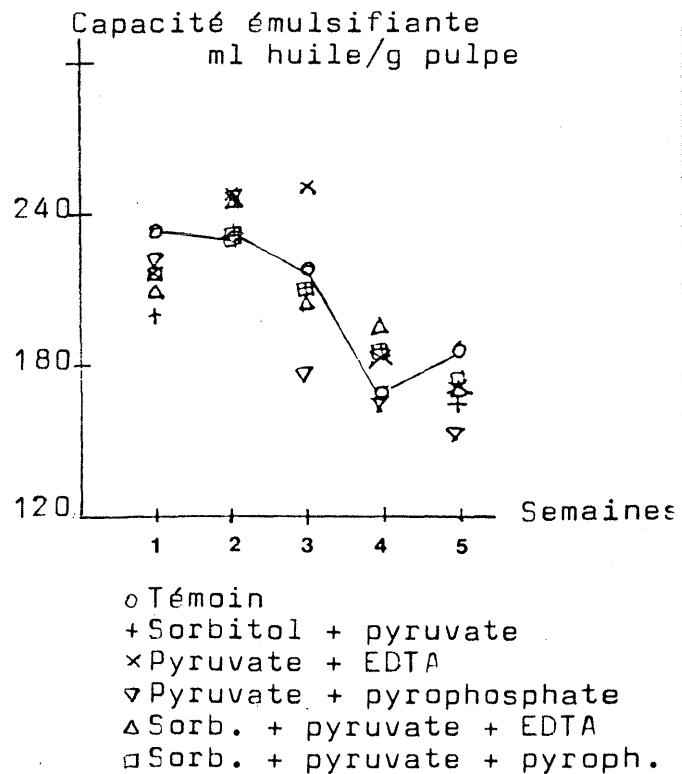
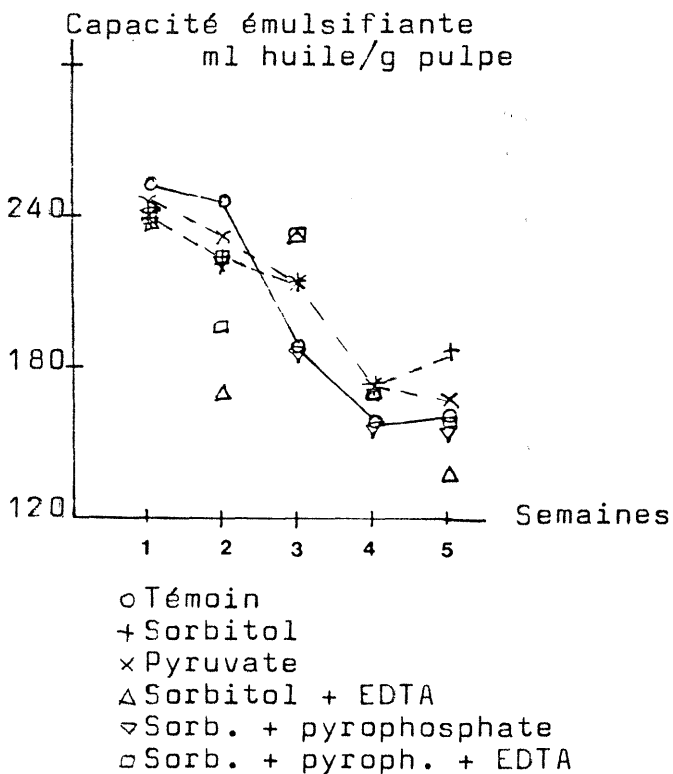
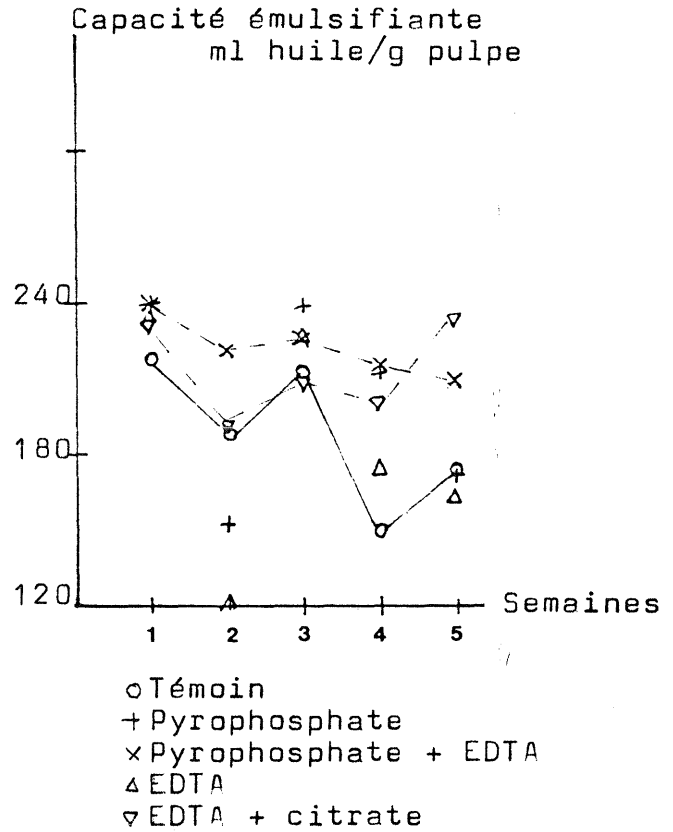
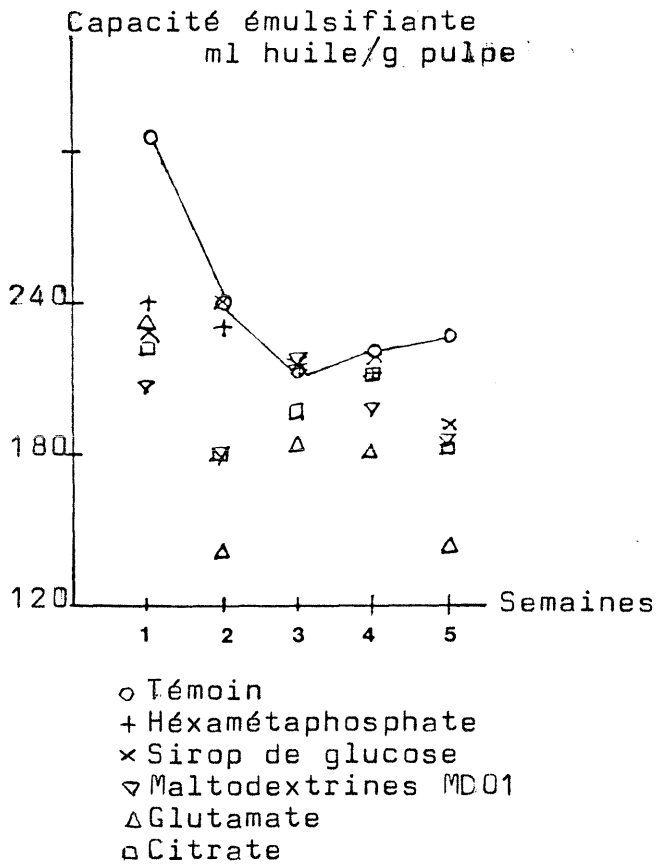
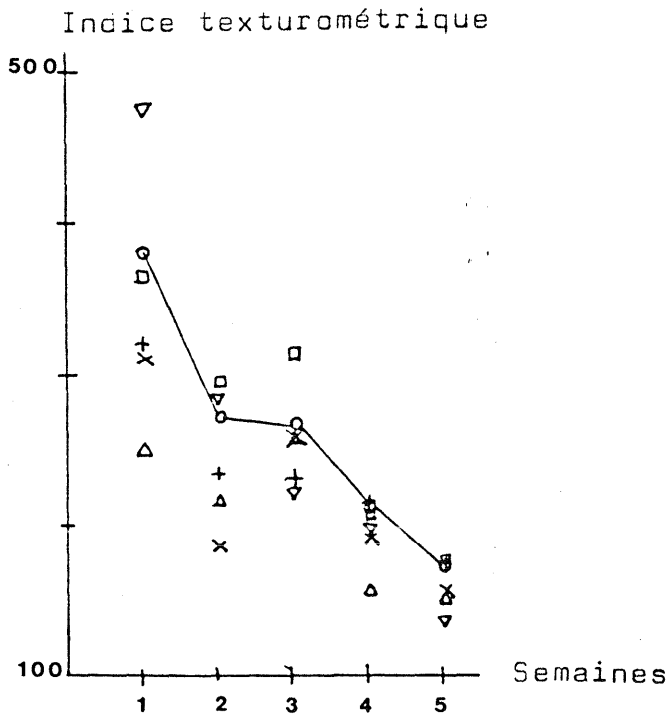
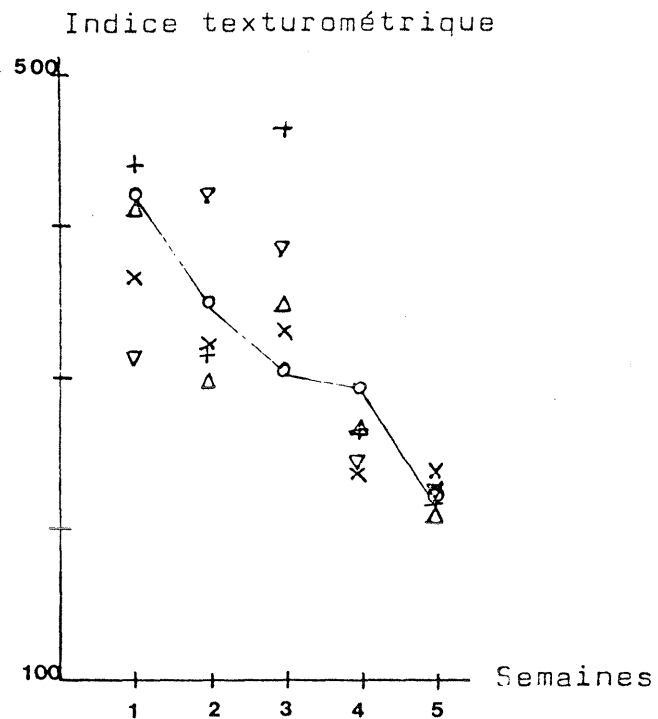


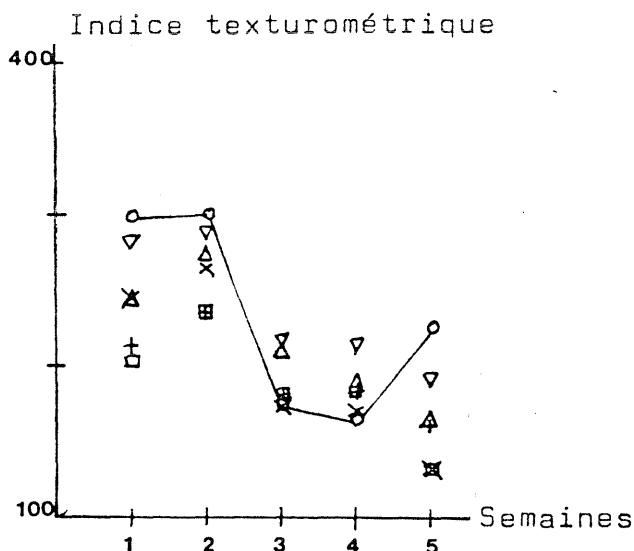
FIGURE 2 - Capacité émulsifiante des protéines de la pulpe de cabillaud, additionnée de cryoprotecteurs et stockée à -18°C.



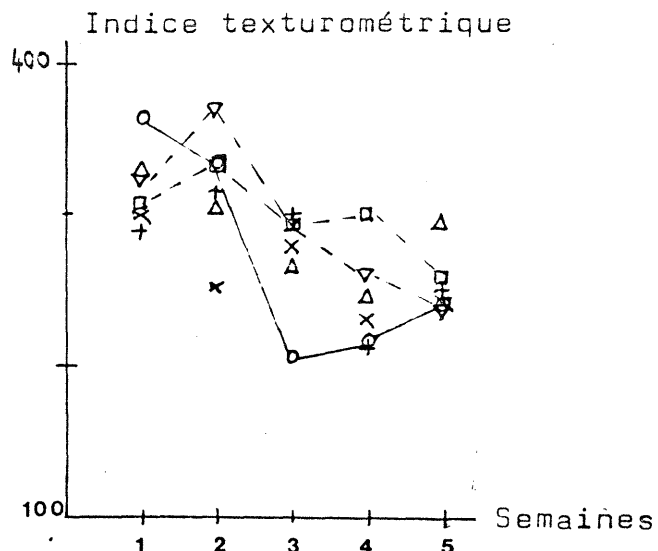
- Témoïn
- + Héxamétaphosphate
- x Sirop de glucose
- ▽ Maltodextrines MD01
- △ Glutamate
- Citrate



- Témoïn
- + Pyrophosphate
- x Pyrophosphate + EDTA
- △ EDTA
- ▽ EDTA + citrate



- Témoïn
- + Sorbitol
- x Pyruvate
- △ Sorbitol + EDTA
- ▽ Sorb. + pyrophosphate
- Sorb. + pyro. + EDTA



- Témoïn
- + Sorbitol + pyruvate
- x Pyruvate + EDTA
- ▽ Pyruvate + pyrophosphate
- △ Sorb. + pyruvate + pyrophos.
- Sorb. + pyruvate + EDTA

FIGURE 3 - Indice textuométrique de la pulpe cuite de cabillaud, additionnée de cryoprotecteurs et stockée à -18°C.

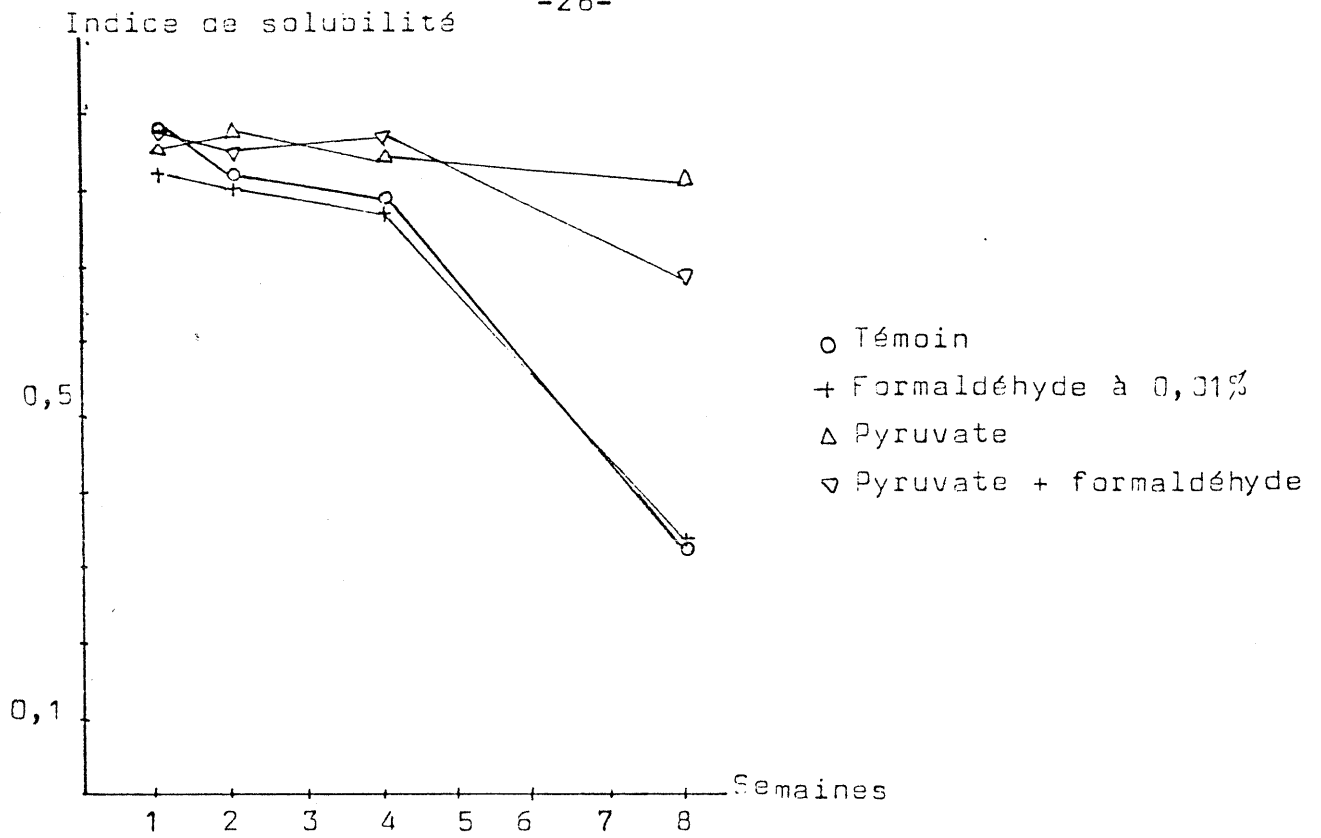


FIGURE 4 - Indice de solubilité des protéines dans le cas où le formaldéhyde est additionné à 0,01% aux solutions de protéines musculaires, avec ou sans pyruvate.

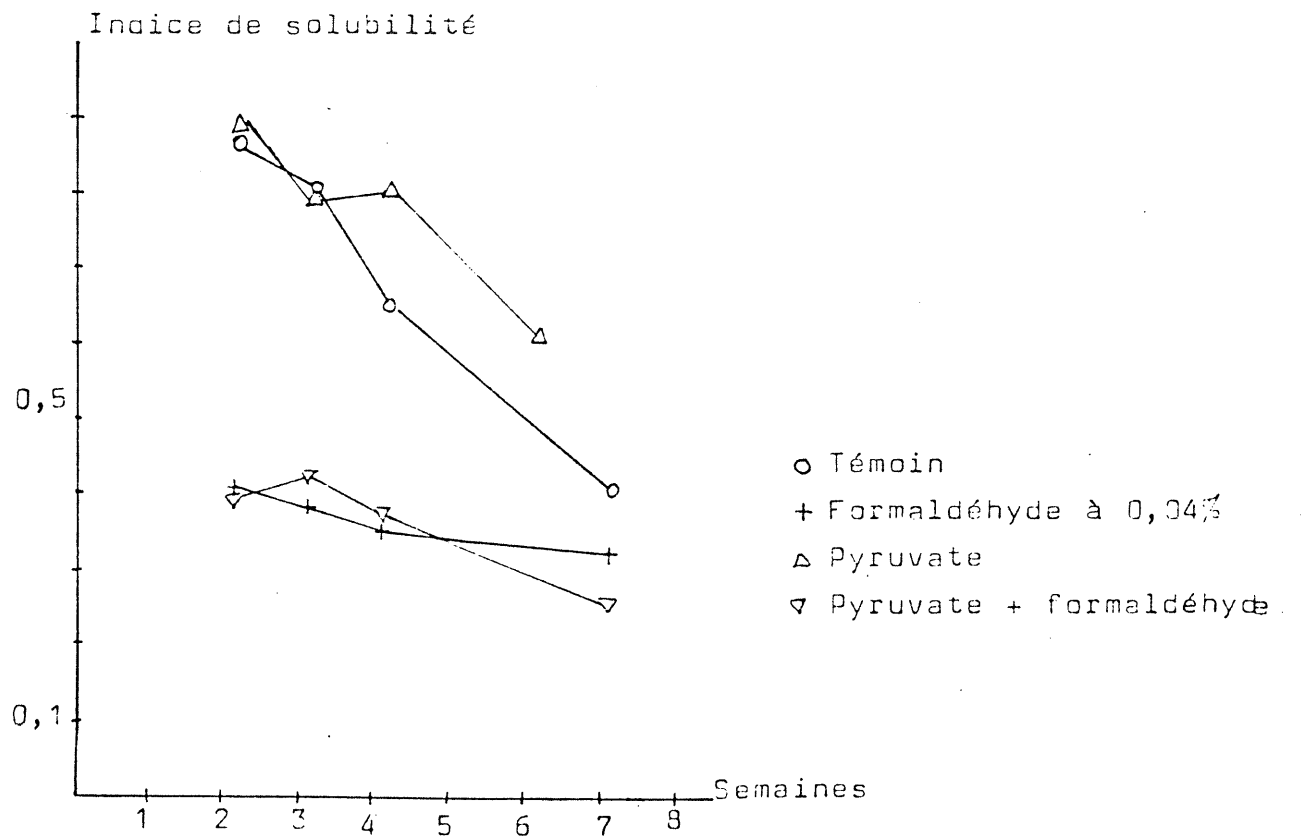


FIGURE 5 - Indice de solubilité des protéines dans le cas où le formaldéhyde est ajouté à 0,04% aux solutions de protéines musculaires avec ou sans pyruvate.

TABLEAU III - Indice de solubilité des solutions de protéines musculaires en présence de cryoprotecteur et de dénaturant (Linoléate L=0,25% ; Formaldéhyde F=0,04% ; Malonaldéhyde M=0,04% ; Sulfate de cuivre Cu=0,005%)

SEMAINES ADDITIFS	2	3	4	7
Témoin	0,87	0,80	0,65	0,41
Formaldéhyde (F)	0,40	0,38	0,35	0,33
Malonaldéhyde (M)	0,85	0,81	0,67	0,37
Sulfate de Cu (Cu)	0,88	0,49	0,39	0,38
Linoléate (L)	0,88	0,73	0,54	0,34
Pyruvate	0,88	0,79	0,80	-
Pyruvate + F	0,39	0,42	0,38	0,26
Pyruvate + M	0,90	0,79	0,90	0,73
Pyruvate + Cu	0,66	0,58	0,50	0,35
Pyruvate + L	0,88	0,71	0,80	0,69
Pyrophosphate	0,88	0,79	0,84	0,72
Pyrophosphate + F	0,54	0,50	0,36	0,23
Pyrophosphate + M	0,87	0,80	0,84	0,61
Pyrophosphate + CU	0,77	0,57	0,54	0,23
Pyrophosphate + L	0,90	0,88	0,82	-
EDTA	0,92	-	0,85	0,71
EDTA + F	0,38	0,38	0,33	0,17
EDTA + M	0,92	0,88	0,86	0,76
EDTA + Cu	0,92	0,84	0,87	0,64
EDTA + L	0,92	0,86	0,91	0,77

TABLEAU IV - Indice de solubilité des solutions de protéines musculaires avec un cryoprotecteur, seul ou en présence du formaldéhyde à 0,04%.

SEMAINES ADDITIFS	0	2	4	7
Témoin	0,92	0,88	0,82	0,72
Formaldéhyde (F)	0,96	0,67	0,31	0,25
Sirop de glucose	0,89	0,92	0,84	0,73
Sirop de glucose + F	0,95	0,63	0,30	0,24
Maltodextrines MD05	1,04	0,95	0,79	0,62
MD05 + F	0,98	0,77	0,31	0,27
Maltodextrines MD01	1,01	0,98	0,84	0,71
MD01 + F	1,04	0,59	0,26	0,23
Glutamate	0,99	0,96	0,90	0,84
Glutamate + F	1,01	0,70	0,37	0,29
Citrate	1,09	0,92	0,94	0,87
Citrate + F	1,03	0,67	0,32	0,29
Héxamétaphosphate	1,01	0,93	0,87	0,75
Héxamétaphosphate + F	0,98	0,60	0,19	0,26
Pyruvate	0,97	1,05	0,93	0,88
Pyruvate + F	0,94	0,66	0,31	0,27
Pyrophosphate	0,92	0,87	0,90	0,82
Pyrophosphate + F	0,89	0,69	0,42	0,31
EDTA	0,95	0,97	0,91	0,93
EDTA + F	0,96	0,70	0,26	0,25

Tableau V - Pourcentages en diméthylamine et en formaldéhyde dans la pulpe additionnée de cryoprotecteurs et entreposée à -18

	% Diméthylamine	% Formaldéhyde calculé
Témoin	0.017	0.011
Héxamétaphosphate	0.022	0.014
Sirop de glucose	0.023	0.015
Maltodextrines MD05	0.017	0.011
Glutamate	0.018	0.012

Tableau VI - Pourcentages en diméthylamine et en formaldéhyde dans la pulpe additionnée de cryoprotecteurs et entreposée à -18°C.

	% Diméthylamine	% Formaldéhyde calculé
Témoin	0.026	0.017
Sorbitol	0.041	0.027
Citrate	0.032	0.021
EDTA	0.059	0.038
Pyruvate	0.048	0.031
Pyrophosphate	0.027	0.018

Tableau VII- Pourcentages en diméthylamine et en formaldéhyde dans la pulpe additionnée de mélanges de cryoprotecteurs et entreposée à -18°C.

	% Diméthylamine	% Formaldéhyde calculé
Témoin	0.036	0.023
Sorbitol + pyruvate	0.040	0.026
Pyruvate + EDTA	0.045	0.029
Pyruvate + pyrophos.	0.041	0.027
Sorb. + pyruva. + EDTA	0.045	0.029
Sorb. + pyru. + pyro.	0.044	0.029

Tableau VIII- Pourcentages en diméthylamine et en formaldéhyde dans la pulpe additionnée de mélanges de cryoprotecteurs et entreposée à -18°C.

	% Diméthylamine	% Formaldéhyde calculée
Témoin	0.029	0.019
Sorbitol + EDTA	0.050	0.033
Pyrophosphate + EDTA	0.046	0.030
Citrate + EDTA	0.047	0.031
Sorbitol + pyrophos.	0.033	0.022
Sorb. + pyrophos. + EDTA	0.049	0.032

B I B L I O G R A P H I E

- ANDERSON, M., RAVESI, E. 1970. On the nature of the association of protein in frozen-stored cod muscle. *Journal of Food Science*, 35, 551-558.
- BROTSKY, E., SWARTZ, W. 1980. Use of polyphosphates in minced fish. Third Nat. Tech. Seminar on mechanical recovery and utilisation of fish flesh, Raleigh, North California.
- BUTTKUS, H. 1970. Accelerated denaturation of myosin in frozen solutions. *J. of Food Science*, 35, 558-562.
- BUTTKUS, H. 1974. On the nature of the chemical and physical bonds which contribute to some structural properties of protein foods: a hypothesis. *J. of Food Science*, 39, 484.
- CASTELL, S., SMITH, B., NEAL, W. 1970. Effects of transition metal ions on the extractable proteins of fish muscles. *J. Fish. Res. Board Can.* 27, 701. Cité par SIKORSKI et col. (1976).
- CCPM 1983. Rapport sur le commerce extérieur des produits de la pêche en 1982. Comité Central des Pêches Maritimes.
- CHILDS, E. 1973. Interaction of formaldehyde with fish muscle in vitro. *J. of Food Science*, 38, 1009-1011.
- CONNELL, J. 1960. Changes in the actin of cod flesh during storage at -14°C. *J. Sci. Food Agric.*, 11, 515-519.
- CONNELL, J. 1962. Changes in amount of myosin extractable from cod flesh during storage at -14°C. *J. Sci. Food Agric.*, 13, 607-617.
- DRAPER, N., SMITH, H. 1966. Applied regression analysis. John Wiley et Sons, New-York. Cité par SIKORSKI et col. (1976).
- DYER, MONNSEY. 1945. Annals in fish muscle : II-Development of TMA and other amine. *J. of the Fisheries Research Board of Canada*, 359-367.
- GRABOWSKA, J., SIKORSKI, Z. 1974. The emulsifying capacity of fish proteins. *Proc. IV Int. Congress Food Sci. and Tech.*, Vol. II, 13-17.
- HAMM, R. 1971. Interactions between phosphates and meat proteins. Symposium : phosphates in food processing, 1970. The Avi Publishing Company, Inc. 65-82.
- HANSON, S., OLLEY, J. 1965. Observations on the relationship between lipids and protein deterioration. *The Technology of Fish Utilisation*, Kreuzer, R., Fishing News London, 111. Cité par SIKORSKI (1976).

- JARENBACK, L., LILJEMARK, A. 1975. Ultrastructural changes during frozen storage of cod (*Gadus morhua* L.) III-Effects of linoleic acid and linoleic acid hydroperoxydes on myofibrillar proteins. *J. Fd Tech.* 10,437-452.
- KELLEHER, S., BUCK, E., HUTTIN, H., PARKIN, K., LICCIARDELLO, J., DAMON, R. 1981. Chemical and physical changes in red hake blocks during frozen storage. *J. of Food Science*, 47,65-70.
- KING, F., ANDERSON, M., STEINBERG, M. 1962. Reaction of cod actomyosin with linoleic and linolenic acids. *J. of Food Science*, 27,363-366.
- LAIRD, W., MACKIE, I., HATTULA, T. 1980. Studies of the changes in the proteins of cod-frame minces during frozen storage at -15°C. *Advances in fish science and technology. Jubilee Conf. of the Torry Research Station, Aberdeen, 23-27 july 1979, 428-434.*
- MACKIE, J., THOMSON, B. 1974. Decomposition of trimethylamine oxide during iced and frozen-storage of whole and comminuted tissue of fish. IV Intl. Congr. Food Sci. Technol. Madrid. Cité par SIKORSKY (1976).
- MOLEDINA, K., REGENSTEIN, J., BAKER, K., STENNKRAUS 1977. Effects of antioxidants and chelators on the stability of frozen stored mechanically deboned flounder meat from racks after filleting. *J. of Food Sci.* 42,759-764.
- NEBICI, M. 1982. Essai d'utilisation des cryoprotecteurs : application au hachis de poisson. Mémoire de fin d'études .
- NOGUCHI, S., MATSUMOTO, J. 1971. Studies on the control of the denaturation of the fish muscle proteins during frozen storage. II-Preventive effect of amino acids and related compounds. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 37,1115-1122.
- NOGUCHI, S., MATSUMOTO, J. 1975^a. Studies on the control of denaturation of fish muscle proteins during frozen storage. III-Preventive effect of some amino acids, peptides, acetylamino acids and sulfur compounds. *Bull. of the Jap. Soc. of Scien. Fish.*, 41,243-249.
- NOGUCHI, S., MATSUMOTO, J. 1975^b. Studies on the control of denaturation of fish muscle proteins during frozen storage. IV-Preventive effect of carboxylic acids. *Bull. of the Jap. Soc. of Scien. Fish.*, 41,329-335.
- NOGUCHI, S., SHINODA, E., MATSUMOTO, J. 1975^c. Studies on the control of denaturation of fish muscle proteins during frozen storage. V-Technological application of cryoprotective substances on the frozen minced fish meat? *Bull. of the Jap. Soc. of Scien. Fish.*, 41,779-786



- OHNISHI, M., RODGER, G. 1980. Effect of formaldehyde addition at different ionic strength on the salt-soluble proteins of fish muscle. Advances in fish science and technology. Jubilee Conf. of the Torry Research Station, Aberdeen, 23-27 July 1979, 459-467.
- POULTER, R., LAWRIE, R. 1979. Studies on fish muscle proteins. Nutritional consequences of adding low concentrations of formaldehyde and/or linoleic acid to cod muscle. Lebensm. Wiss. U. Technol., 12, 47-51. Cité par OHNISHI et col. (1980).
- Principles of Food Science - Part 1 - Food Chemistry. Edité par Owen R. Fennema. Marcel Dekker Inc. New-York.
- RODGER, G., WEDDLE, R., CRAIG, P. 1980. Effect of time, temperature, raw material type, processing and use of cryoprotective agents on mince quality. Advances in fish science and technology. Jubilee Conf. of the Torry Research Station, Aberdeen, 23-27 July 1979, 199-217.
- SIKORSKI, Z., KOSTUCH, S., KOLODZIEJSKA, J. 1975. Zur Frage des Protein-denaturiering im gefronen Fishfleisch. Nahrung, 19, 997.
- SIKORSKI, Z., OLLEY, J., KOSTUCH, S. 1976. Protein changes in frozen fish. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, Sept., 97-129.
- SPINELLI, J., KOURY, B. 1979. Non enzymic formation of dimethylamine in dried fishery products. J. of Agricultural and Food Chemistry, Sept Oct., 1104-1108.
- SPINELLI, J., KOURY, B. 1981. Some new observations on the pathways of formation of DMA in fish muscle and liver. J. Agric. Food Chem., 29 327-331.
- SWIFT, C., LOCKETT, C., FRYAN, A. 1961. Comminuted meat emulsions. The capacity of meats for emulsifying fat. Food Technology, 15, 468-473.
- TOKUNOGA, T. 1974. The effect of decomposed products of trimethylamine oxide on quality of frozen Alaska pollack fillets. Bull. of the Jap Soc. of Scien. Fish., 40, 167.
- TRAN, V. 1974. L'effet préventif de l'acide pyruvique et d'autres acides cétoniques sur la dénaturation des protéines dans le poisson congelé. Can. Inst. Food Sci. Technol., 7, 203-207.
- TRAN, V. 1975. A research note :effect of sodium pyruvate on the texture of frozen stored cod fillets. J. of Food Sci., 40, 888-889.
- TRAN, V., HAN-CHING, L. 1981. Essais préliminaires des cryoprotecteurs dans les pulpes de poisson. ISTPM Nantes.
- WEBB, N., IVEY, F., CRAIG, H., JONES, N., MONROE, R. 1970. The measurement of emulsifying capacity by electrical resistance. J. of Fd. Sc., 35, 507

A N N E X E : Démonstration de la formule donnant l'indice textu -
rométrique (NECIBI 1982)

La force appliquée pour compresser le cylindre permet de définir un indice texturométrique (I T) :

$$I T = \frac{\frac{L_0 - L}{L_0}}{\frac{F}{S}}$$

L = hauteur après déformation
L₀ = hauteur initiale
F = force appliquée donnée par le graphique
S = section du cylindre

Si $L = L_0/2$, on note $F = F^{1/2}$ alors $I T = 1/2 \frac{S}{F^{1/2}}$

En supposant la conservation de volume, nous pouvons écrire :

$$S_0 L_0 = S L \text{ et } L = 1/2 L_0 \text{ donc } S = 2 S_0$$

Nous avons aussi $V = S_0 L_0$

Si on admet que : - la perte de poids est due à la perte d'eau
- il y a environ 80% d'eau et 20% de protéines

ρ = masse spécifique de la chair cuite

$$\rho_{\text{eau}} = 1 \text{g/cm}^3$$

$$\rho_{\text{pn}} = 1,5 \text{g/cm}^3$$

$$\rho = \frac{0,8 M_0 - (M_0 - M)}{M} \times 1 + \frac{0,2 M_0}{M} \times 1,5$$

$$\rho = \frac{M - 0,2 M_0}{M} + \frac{0,2 M_0}{M} \times 1,5$$

$$\rho = 1 + \frac{0,1 M_0}{M} \text{ et si, } M_0 = 20 \text{g alors } \rho = 1 + \frac{2}{M}$$

$$V = S_0 L_0 \text{ et } S_0 = 1/2 S \text{ alors } V = 1/2 S L_0$$

$$\text{et } \rho = M/V \text{ donc } V = M/\rho = 1/2 S L_0 \text{ alors } S = \frac{2M}{\rho L_0}$$

$$\text{donc } I T = 1/2 \frac{S}{F^{1/2}} = 1/2 \frac{2M}{F^{1/2} L_0 \rho} = \frac{M}{F^{1/2} L_0 \rho}$$