

UNIVERSITE DE NANTES

Ecole polytechnique de l'Université de Nantes

ECOLE DOCTORALE

Mécanique, Thermique et Génie Civil

DE NANTES

Année 2003

Thèse de **DOCTORAT**

Discipline : Génie des procédés

Spécialité : Biochimie

présentée et soutenue publiquement par

EYMARD Sylvie

le 10 Octobre 2003.

à l'IFREMER de Nantes

**Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation
et de la transformation du chinchard (*Trachurus trachurus*) : choix des procédés**

JURY

Rapporteurs: AUBOURG MARTINEZ Santiago Pedro, Investigador científico (CSIC, Espagne)
FANNI Jacques, Professeur (ENSAIA, Nancy)
Examineurs : BRULE Gérard, Professeur (ENSAR) (Président du Jury)
LEGRAND Jack, Professeur (GEPEA, Université de Nantes)
GENOT Claude, Chargée de Recherche INRA
DURAND Patrick, Directeur du département Valorisation des Produits
(IFREMER)
CHANTREAU Jean-Vincent, Directeur Euro Seafood Trading (Invité)

Directeur de thèse : DURAND Patrick

Laboratoire : IFREMER

Adresse : Département Valorisation des Produits- Rue de l'île d'Yeu- B.P.21105- 44311 Nantes cedex 3

N°ED 0367-089

RESUME

Les petits pélagiques gras sont des espèces sous exploitées pour lesquelles la fabrication de surimi semble être une bonne voie de valorisation. Mais leur transformation se heurte à des problèmes de qualité des produits finis. Ces difficultés sont en grande partie liées aux réactions de dégradation des lipides qui provoquent l'altération des propriétés fonctionnelles et sensorielles de la chair et des produits issus de sa transformation.

L'objectif de cette étude était d'identifier les étapes critiques du procédé de fabrication du surimi de chinchards (*Trachurus trachurus*), afin de proposer des solutions permettant de limiter le développement des réactions d'oxydation des lipides. Pour ce faire, la formation des composés issus de ces réactions a été suivie au cours de la conservation de la matière première puis au cours de la fabrication du surimi et de sa conservation à l'état congelé, en tenant compte de l'impact de la qualité de la matière première.

Dans un premier temps, les méthodes d'analyse des lipides et de leur produits d'oxydation ont été adaptées à la matrice étudiée. Ainsi, une méthode de dosage des hydroperoxydes, ne nécessitant pas d'extraction préalable des lipides, a été mise au point. Le potentiel de la technique de fluorescence frontale à évaluer certaines altérations au sein du surimi a également été montré.

Dans le muscle de chinchards, les réactions d'oxydation des lipides démarrent en moins de 6 heures à 17°C tandis qu'elles se développent au-delà de 36 heures de conservation sous glace. Comparé au surimi fabriqué à partir de chinchards conservés 36 heures sous glace, le niveau d'oxydation des lipides est significativement réduit quand le surimi est préparé avec des chinchards conservés 6 heures sous glace. Ainsi, l'état de fraîcheur des poissons est un facteur primordial vis-à-vis de la qualité du surimi. Au cours du procédé de fabrication du surimi, une forte proportion des lipides initialement présents dans le muscle est éliminée tandis que les réactions d'oxydation des lipides se développent, plus particulièrement au cours des étapes de lavage et de tamisage. Bien qu'une fraction importante des composés d'oxydation des lipides soit éliminée dans l'eau issue de la dernière étape d'essorage, les teneurs en ces composés restent élevées dans le surimi. Au cours d'une année de conservation du surimi à -20°C ou -20°C sous vide, les teneurs en produits primaires et secondaires d'oxydation des lipides diminuent, probablement du fait de réactions de dégradation des produits d'oxydation ou d'interactions avec les protéines. D'après les résultats obtenus, la mise sous vide lors de l'emballage du surimi n'apparaît pas nécessaire.

En plus des critères de conservation et de qualité de la matière première, les résultats obtenus ont permis de proposer des solutions techniques (réfrigérer la chaîne de transformation, limiter l'incorporation d'oxygène) et chimiques (addition d'antioxydants) afin de limiter le développement des réactions d'oxydation au cours du procédé.

Mots clés : lipides, oxydation des lipides, petits pélagiques, surimi, conservation, transformation.

Discipline : Génie des procédés

N°:

A mes Parents

A mon Frère

A ma Tatie

*« On ne peut pas croire à la moitié de ce qu'on entend raconter,
on ne peut pas croire à la plupart des choses qu'on lit,
mais on peut croire à tout ce que l'on fait... »*

Ellen MacArthur (2002), *Du vent dans les rêves*, ~~Ø~~ Editions, Paris

REMERCIEMENTS

J'adresse mes remerciements au Ministère de la Culture, de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche du Grand Duché de Luxembourg, pour avoir financé la bourse de thèse ayant permis de réaliser ce travail.

Je remercie Mr Jean Vincent Chantreau, directeur de la société Euro Seafood Trading pour m'avoir intégrée à son projet, pour sa confiance et son soutien.

J'adresse mes remerciements à Mr Jean Luc Vallet, responsable du laboratoire Génie Alimentaire de l'IFREMER (Nantes) pour m'avoir intégrée à son laboratoire, pour ses conseils et pour les conditions techniques mises à ma disposition afin de réaliser ce travail. Je remercie également Mr Jean Marc Chobert, responsable du Laboratoire d'Etudes des Interactions des Molécules Alimentaires de L'INRA (Nantes) pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire.

Je remercie Mr Jacques Fanni et Mr Santiago Aubourg d'avoir accepté d'évaluer ce travail. Je remercie également Mr Gérard Brulé et Mr Jack Legrand pour leur participation au jury de thèse.

Je remercie Mr Patrick Durand, Directeur de Thèse, pour ses conseils et ses remarques percutantes qui m'ont permis d'avancer dans mon travail.

J'adresse mes très sincères remerciements à Madame Claude Genot, chargée de recherche à l'INRA, pour son aide très précieuse au cours de ces trois années. Claude, merci pour ta disponibilité, tes conseils, tes encouragements, et ton enseignement. Merci de m'avoir permis de trouver, à travers ton travail et celui de ton équipe, les valeurs pour lesquelles j'ai emprunté la voie de la Recherche.

Je remercie Christine Chopin, responsable du projet texturation, pour sa participation à ce travail.

Je remercie également Jean Pascal Bergé pour ses conseils lors de la réalisation de ce travail et pour nos discussions lipidiques.

J'adresse mes sincères remerciements à Estelle, Elodie et Sylvie, pour leur contribution à ce travail au cours de leurs stages. Merci Elo pour ton aide au cours de ton stage et de ton CDD, mais surtout merci pour ta gentillesse, ton soutien et ton précieux coup de main lors de la réalisation finale de ce manuscrit.

Je remercie également André Daniel pour son aide et sa contribution à ce travail au cours de ces derniers mois.

Je souhaite remercier tout particulièrement Mr Christian Richard pour son accueil, sa présence et son aide au cours de ce travail. Merci Christian pour ta disponibilité et ta gentillesse mais surtout pour ton amitié et tout ce que tu m'as apporté.

Mes remerciements s'adressent également à Josiane Cornet et Mireille Cardinal pour leur disponibilité, leur sympathie et la réalisation des tests d'analyse sensorielle. Merci Mireille pour tes conseils au quotidien et ton aide lors de la rédaction de ce manuscrit. Merci Jojo pour tes produits made in Cheverny qui m'ont évité l'amaigrissement.

J'adresse mes remerciements à l'équipe FLAVEM du LEIMA pour son accueil. Je remercie plus particulièrement Vincent Rampon, Michelle Viau, Nathalie Moreau et Christelle Leborgne pour leur aide au cours de ce travail. Merci Vincent pour ta disponibilité, ton aide et tes conseils. Merci Michelle et Nathalie de m'avoir initiée aux techniques d'analyse des lipides mais surtout pour votre gentillesse, votre soutien et votre écoute.

Je remercie mes collègues de bureau, Gégé, Gilles, Jean Claude, Jean Yves et Max pour m'avoir accompagnée au cours de ces dernières années.

Je remercie Marie-Joelle Rochet pour sa gentillesse et la réalisation des études statistiques des publications.

Je remercie les personnes rencontrées à bord de La Thalassa pour leur aide et l'expérience humaine qu'ils m'ont permis de vivre.

Je remercie également Joëlle Noël pour sa gentillesse et nos discussions sur un air corrézien.

Je souhaite remercier Lysiane Charrieau pour sa disponibilité et la reproduction des rapports et manuscrits.

Je remercie également les sportifs de la section tennis et plus particulièrement, Françoise, Marie-Joelle, Manu et Verena pour leurs conseils et les moments de détente.

J'adresse mes remerciements aux personnes du Laboratoire Génie Alimentaire et à toutes les personnes côtoyées au quotidien qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail et à rendre ces trois années agréables et enrichissantes.

Je souhaite également remercier celles et ceux par qui mon aventure biochimique a commencé. Je remercie Laetitia Brigot et Florence Prévéraud de m'avoir communiqué leur passion pour la paillasse. Je remercie également Vincent Gloagen et Anne Fertin-Bazus pour m'avoir impliquée dans leur projet de recherche et encouragée à continuer dans cette voie.

Je remercie l'équipe de football féminin de Sainte-Luce pour les moments de défoulement et pour la joie partagée de jouer ensemble. Merci les filles pour votre bonne humeur, pour ces fous rires et ces matchs où on n'a rien lâché : « que du bonheur ».

J'adresse mes très sincères remerciements à l'équipe thé&café du midi pour sa gentillesse, ses encouragements et les bons moments passés ensemble. Merci à Chrystèle, Elo, Fab, Florence, Giaco, Jérôme, Ju, Sylvain, et leur moitié, pour les moments de détente, les fous rires, les soirées, les délires... qui ont rendus ces trois années plus qu'agréables et inoubliables. Un merci particulier à Giaco pour son aide lors de la réalisation du manuscrit et pour son accueil. Je remercie également mes amis de Limoges et d'ailleurs, pour leurs encouragements, leur présence et leur précieuse amitié.

Un très grand merci à mes parents et à mon frère pour tout ce qu'ils m'apportent et notamment pour leur confiance, leur soutien, leur aide...

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
--------------------------	----------

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.....	3
-----------------------------------	----------

CHAPITRE 1: LE SURIMI	3
------------------------------------	----------

I- Evolution de l'industrie du surimi	3
I-1- Contexte économique	3
I-2- Origines de la matière première	6

II- Procédés de fabrication du surimi.....	7
II-1- Indices de qualité du surimi	7
II-2- Procédé de transformation des poissons blancs	9

III- Les petits pélagiques.....	12
III-1- Le Chinchard (<i>Trachurus trachurus</i>).....	13
III-2- Le maquereau commun (<i>Scomber scombrus</i>).....	13
III-3- La sardine commune (<i>Sardina pilchardus</i>).....	14

IV- Caractéristiques particulières des petits pélagiques gras induisant des difficultés pour la fabrication du surimi	14
IV-1- Hétérogénéité de la matière première.....	14
IV-2- Altération rapide de la chair	16
IV-3- Mauvaise capacité de gélification des protéines.....	17
IV-4- Forte proportion de lipides	19
IV-5- Présence de substances pro-oxydantes	20
IV-6- Cas particulier de la transformation des poissons gras	20

CHAPITRE 2: LES ALTERATIONS DES LIPIDES DE POISSON	25
---	-----------

I- Les lipides de poisson	25
I-1- Sites des dépôts lipidiques.....	25
I-2- Nature des lipides	26

II- La lipolyse.....	27
-----------------------------	-----------

III- L'oxydation des lipides	28
III-1- Mécanismes généraux de l'oxydation des lipides.....	29
III-2- Les initiateurs de l'oxydation des lipides	33
III-3- Produits formés au cours de l'oxydation des lipides.....	36
III-4- Les antioxydants	38

IV- Altération des lipides lors de la conservation du poisson et au cours des procédés de transformation du surimi	40
IV-1- Conservation sous glace de la matière première.....	40
IV-2- Transformation du surimi	42

V- Méthodes de mesure de l'altération des lipides	43
V-1- Analyse des produits formés par la lipolyse	43
V-2- Mesure de l'oxydation des lipides	44
V-3- Analyse des composés résultant de l'interaction entre les produits d'altération des lipides et les protéines	49

MATERIELS & METHODES.....54

I- Modes de prélèvement et de préparation des échantillons	54
I-1- Prélèvement et conservation des chinchards (<i>Trachurus trachurus</i>) destinés à l'étude de leur conservation sous glace ou à 17°C	54
I-2- Fabrication de surimi de chinchard sur la chaîne pilote IFREMER	55
II- Analyses biochimiques.....	58
II-1- Détermination de la teneur en eau et en lipides totaux des échantillons	58
II-2- Détermination de la teneur en phospholipides	61
II-3- Composition en acides gras des extraits lipidiques par chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques d'acides gras	62
III- Détermination du degré d'oxydation des lipides	64
III-1- Produits primaires de l'oxydation des lipides	64
III-2- Produits secondaires d'oxydation des lipides	67
IV- Altération des protéines et mesures des composés fluorescents	68
V- Analyse sensorielle	71
VI- Etude statistique	72

RESULTATS & DISCUSSION..... 74

CHAPITRE 1 :..... 74

MISE AU POINT D'UNE METHODE DE DOSAGE DES HYDROPEROXYDES PAR LE XYLENOL ORANGE

CHAPITRE 2 :..... 77

CINETIQUE D'OXYDATION DES LIPIDES AU COURS DE LA CONSERVATION DES CHINCHARDS (*Trachurus trachurus*) SOUS GLACE OU A 17°C

I- Caractérisation biochimique des muscles de chinchards au cours de la conservation des poissons....	79
I-1- Teneurs en eau et en lipides totaux.....	79
I-2- Teneur en phospholipides et composition en acides gras des lipides totaux.....	80
II- Evolution du niveau d'oxydation des lipides au cours de la conservation des chinchards.....	83
II-1- Produits primaires de l'oxydation des lipides.....	83
II-2- Produits secondaires de l'oxydation des lipides.....	86
II-3- Analyse sensorielle.....	87
III- Conclusion.....	89

CHAPITRE 3 : 92

**PROCEDE DE FABRICATION DU SURIMI DE CHINCHARD
DETERMINATION DES ETAPES CRITIQUES
IMPORTANCE DE LA QUALITE DE LA MATIERE PREMIERE**

I- Résultats : Evolution de la composition biochimique des produits et du niveau d'oxydation des lipides au cours de la transformation des chinchards en surimi.....94
I-1- Caractérisation biochimique des matières premières.....94
I-2- Evolution biochimique des produits et de l'oxydation des lipides au cours du procédé de fabrication du surimi.....95

II- Discussion : Identification des étapes critiques du procédé de fabrication du surimi de chinchard 98
II-1- Deux lots de matière première aux caractéristiques biochimiques différentes..... 98
II-2- Les étapes de fabrication du surimi conditionnent la qualité du produit.....100
II-3- Influence de la qualité de la matière première sur celle du surimi.....106
II-4- Modification et optimisation du procédé de transformation.....108

CHAPITRE 4 :112

**DEVENIR DES PRODUITS D'OXYDATION DES LIPIDES AU COURS DE LA
CONSERVATION DE LA PATE ET DU SURIMI DE CHINCHARD A -20°C ET
-20°C SOUS VIDE**

I- Diminution des teneurs en composés primaires et secondaires de l'oxydation des lipides au cours de la conservation.....113

II- Analyse de la pâte et du surimi par spectroscopie de fluorescence en mode frontal.....115
II-1- Détermination des marqueurs fluorescents de l'altération du surimi.....115
II-2- Evolution des marqueurs de fluorescence au cours de la conservation à -20°C et -20°C sous vide des pâtes et des surimis de chinchards.....117
II-3- Evolution des intensités de fluorescence des résidus tryptophanyle au cours de la conservation à -20°C et -20°C sous vide des pâtes et des surimis de chinchards.....118

CONCLUSION & PERSPECTIVES.....122

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....126

ANNEXES

LISTE DES FIGURES

- Figure 1** Répartition en volumes de la consommation de produits à base de surimi en Europe. D'après Linéaires, N°182, Juin 2003.
- Figure 2** Evolution de la production et de la consommation de préparations à base de surimi en France, d'après données ADISUR (2003).
- Figure 3** Principales étapes de la fabrication du surimi (d'après Toyoda et coll., 1992).
- Figure 4** Chinchard commun (*Trachurus trachurus*).
- Figure 5** Variations des teneurs en lipides (g de lipides pour 100 g de muscle) et en phospholipides (g de phospholipides pour 100 g de muscle) du muscle de chinchard (*Trachurus trachurus*) au cours d'une année. D'après Bandarra et coll., (2001).
- Figure 6** Influence des variations saisonnières sur la composition biochimique des filets, de la chair et du surimi de sardines (*Sardina pilchardus*). D'après Nunes et coll. (1992).
- Figure 7** Photographie de la face dorsale d'un filet de chinchard (*Trachurus trachurus*).
- Figure 8** Sites d'attaque des phospholipases A2 et B.
- Figure 9** Schéma général de l'oxydation des lipides.
- Figure 10** Mécanisme d'initiation de la peroxydation des lipides par l'activité lipoxygénasique (German et Kinsella, 1985)
- Figure 11** Schématisation de la cinétique d'oxydation des acides gras insaturés (d'après Genot, communication personnelle).
- Figure 12** Mécanismes de décomposition des monohydroperoxydes des triacylglycérols. D'après Genot et coll. (2003).
- Figure 13** Mécanismes impliqués dans les interactions entre les protéines et les aldéhydes (D'après Genot et coll., 2003).
- Figure 14** Schéma des différentes étapes et des prélèvements réalisés sur la chaîne pilote IFREMER de fabrication du surimi de chinchards.
- Figure 15** Photographie du séparateur mécanique (*Baader 694, Germany*) utilisé au cours de la première étape de fabrication du surimi afin d'éliminer la peau et les arêtes et d'obtenir la chair de chinchards.
- Figure 16** Schéma éclaté de la tamiseuse (*Robot Coupe C120, France*).

- Figure 17** Décanteuse centrifuge (*Sharples, Angleterre*) utilisée lors de la dernière étape d'essorage centrifuge permettant l'obtention de la pâte de poisson (document *Alpha Laval, Suède*).
- Figure 18** Chair de chinchards obtenue en sortie de séparateur mécanique (A) et surimi de chinchards obtenu en fin de procédé (B) .
- Figure 19** Installation mise en place au laboratoire GA/IFREMER pour l'extraction des lipides.
- Figure 20** Evolution des teneurs en eau et en lipides des filets de chinchards au cours de la conservation sous glace.
- Figure 21** Proportion en phospholipides des lipides totaux de filets de chinchards, prélevés sur des poissons conservés sous glace (lot A) ou à 17°C (lot B), en fonction des teneurs en lipides des filets.
- Figure 22** Evolution des proportions d'acides gras saturés, monoinsaturés et polyinsaturés (g/100 g acides gras totaux) des lipides totaux de filets de chinchard, au cours de la conservation sous glace (A) ou à 17°C (B) des chinchards (*Trachurus trachurus*) (n=3).
- Figure 23** Evolution des concentrations en hydroperoxydes (mmoles Eq CuOOH / g lipides) et des valeurs de diènes conjugués (A_{233nm}/A_{214nm}) des filets de chinchard prélevés sur des poissons conservés sous glace (Lot A) ou à 17°C (Lot B), (n=3).
- Figure 24** Comparaison des concentrations en sr-TBA ($\mu\text{g Eq MDA/g lipides}$) obtenues au cours de la conservation des chinchards sous glace ou à 17°C, (n=5).
- Figure 25** Comparaison des rangs de classement obtenus par analyse sensorielle et des concentrations en sr-TBA (mg Eq MDA /kg MH) mesurées au sein des muscles de chinchard conservés sous glace ou à 17°C.
- Figure 26** Représentation graphique simultanée des variables et des lots sur le plan 1-2 de l'ACP normée réalisée sur les variables biochimiques et sensorielles obtenues sur les différents échantillons de filets de chinchards prélevés sur des poissons conservés de 0 à 72 heures sous glace (G-) ou de 0 à 24 heures à 17°C (a-).
- Figure 27** Evolution des teneurs en lipides (g/100gMS) au cours des étapes du procédé de fabrication du surimi de chinchard. Les chiffres de l'axe des abscisses correspondent aux différents prélèvements : (0) filets, (1) chair, (2) chair lavée, (3) chair tamisée, (4) eau d'essorage, (5) pâte, (6) surimi.
- Figure 28** Evolution des concentrations en sr-TBA des produits prélevés au cours de la fabrication du surimi. Deux fabrications ont été réalisées l'une à partir de chinchards frais l'autre à partir de chinchards conservés 36 heures sous glace. Les chiffres de l'axe des abscisses correspond aux différents prélèvements : (0) filets, (1) chair, (2) chair lavée, (3) chair tamisée, (4) eau d'essorage, (5) pâte, (6) surimi.

- Figure 29** Comparaison des teneurs en eau (g/100g), en lipides (g/100g PF), en phospholipides (g/100g lipides) et des concentrations en produits d'oxydation des lipides, diènes conjugués (A_{233}/A_{214}), hydroperoxydes ($\mu\text{moles/g lipide}$), sr-TBA ($\mu\text{g/g lipide}$), obtenues pour les filets préparés à partir de chinchards « frais » (Lot C) ou conservés 36 heures sous glace (Lot D).
- Figure 30** Comparaison des teneurs en eau (g/100g), en lipides (g/100g PF), en phospholipides (g/100g lipides) et des concentrations en produits d'oxydation des lipides, diènes conjugués (A_{233}/A_{214}), hydroperoxydes ($\mu\text{moles/g lipide}$), sr-TBA ($\mu\text{g/g lipide}$), obtenues pour du surimi fabriqué à partir de chinchards « frais » (Lot A) ou conservés 36 heures sous glace (lot B).
- Figure 31** Séparateur mécanique de type *Lima*® installé sur la chaîne de transformation en remplacement du séparateur de type *Baader*®.
- Figure 32** Photographie de la chaîne pilote (*IFREMER-Euro Seafood Trading*) de fabrication du surimi.
- Figure 33** Schéma des étapes unitaires de la chaîne pilote de fabrication du surimi. (*IFREMER-Euro Seafood Trading*).
- Figure 34** Teneurs en hydroperoxydes (mmoles Eq CuOOH/kg MH) de la pâte fabriquée à partir de chinchards frais (Lot C) ou conservés 36 heures sous glace (Lot D) au cours de la conservation à -20°C et -20°C sous vide.
- Figure 35** Teneurs en hydroperoxydes (mmoles Eq CuOOH/kg MH) du surimi fabriqué à partir de chinchards frais (Lot C) ou conservés 36 heures sous glace (Lot D), au cours de la conservation à -20°C et -20°C sous vide.
- Figure 36** Teneurs en sr-TBA (mg Eq MDA/kg MH) de la pâte fabriquée à partir de chinchards frais (Lot C) ou conservés 36 heures sous glace (Lot D), au cours de la conservation à -20°C et -20°C sous vide.
- Figure 37** Evolution des teneurs en sr-TBA (mg Eq MDA/kg MH) du surimi fabriqué à partir de chinchards frais (Lot C) ou conservés 36 heures sous glace (Lot D), au cours de la conservation à -20°C et -20°C sous vide.
- Figure 38** Spectres de fluorescence en 3 dimensions (vue 3D ou courbes de niveau) du surimi de chinchards au temps 0 (T0) et après 24 (24H) ou 48 heures (48H) de conservation à température ambiante (20°C). P1 ($\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} : 330/450 \text{ nm}$), P2 ($\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} : 360/450 \text{ nm}$), P3 ($\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} : 400/463 \text{ nm}$), Trp ($\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} : 290/333 \text{ nm}$).
- Figure 39** Spectres de fluorescence en 3 dimensions du surimi de chinchards frais (lot C) au temps 0 (T0) et après 12 mois de conservation à -20°C sans vide (-20°C) et avec vide (-20°C sous vide)

- Figure 40** Evolution des intensités de fluorescence I1 ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}=330/450$ nm) au cours de la conservation à -20°C et -20°C sous vide de la pâte fabriquée à partir de chinchards frais (Lot C) ou conservés 36 heures sous glace (Lot D).
- Figure 41** Evolution des intensités de fluorescence I2 ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}=360/450$ nm) au cours de la conservation à -20°C et -20°C sous vide de la pâte fabriquée à partir de chinchards frais (Lot C) ou conservés 36 heures sous glace (Lot D).
- Figure 42** Evolution des intensités de fluorescence I1 ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}=330/450$ nm) au cours de la conservation à -20°C et -20°C sous vide du surimi fabriqué à partir de chinchards frais (Lot C) ou conservés 36 heures sous glace (Lot D).
- Figure 43** Evolution des intensités de fluorescence I2 ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}=360/450$ nm) au cours de la conservation à -20°C et -20°C sous vide du surimi fabriqué à partir de chinchards frais (Lot C) ou conservés 36 heures sous glace (Lot D).
- Figure 44** Spectres d'émission des résidus Trp (excitation : 290 nm) du surimi de chinchard, fabriqué à partir de chinchards frais, au cours de sa conservation à -20°C sous vide.
- Figure 45** Spectres d'émission des résidus Trp (excitation : 290 nm) du surimi fabriqué à partir de chinchards frais (frais) ou conservés 36 heures sous glace (glace) durant sa conservation sous à -20°C sous vide.
- Figure 46** Evolution des intensités de fluorescence des Trp ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}=290/333$) nm au cours de la conservation à -20°C et -20°C sous vide de la pâte fabriquée à partir de chinchards frais (Lot C) ou conservés 36 heures sous glace (Lot D).
- Figure 47** Evolution des intensités de fluorescence des Trp ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}=290/333$ nm) au cours de la conservation à -20°C et -20°C sous vide du surimi fabriqué à partir de chinchards frais (Lot C) ou conservés 36 heures sous glace (Lot D).

LISTE DES TABLEAUX

- Tableau I** Critères d'évaluation sensorielle de la texture du kamaboko.
- Tableau II** Critères d'évaluation de la qualité du kamaboko par le test de pliage (d'après Lanier, 1992).
- Tableau III** Composition lipidique du muscle brun et du muscle blanc des filets de maquereaux bleus (*Scomber australasicus*). D'après Body & Vlieg (1989).
- Tableau IV** Distinction de différentes espèces de poissons en fonction de leur teneur en lipides dans les muscles (en g de lipides pour 100g de muscle). D'après Ackman, (1994).
- Tableau V** Composition en acides gras (g/100 g acides gras totaux) des lipides de chinchards (*Trachurus trachurus*) capturés en novembre 1997 (Bandarra et coll., 2001) et de sardines (*Sardina pilchardus*) capturées en novembre 1994 (Bandarra et coll., 1997).
- Tableau VI** Groupements réactifs des produits d'oxydation des lipides et des protéines intervenant dans les réactions d'interaction lipides-protéines. D'après Pokorny (1977).
- Tableau VII** Programmation des températures pour la chromatographie en phase gazeuse.
- Tableau VIII** Comparaison des méthodes de dosage des hydroperoxydes par le xylénol orange sur des extraits tissulaires.
- Tableau IX** Teneur en eau et en lipides des filets de chinchards (*Trachurus trachurus*) prélevés sur des poissons conservés entiers sous glace (lot A) ou à 17°C (lot B). Pour chaque temps de prélèvement les analyses ont été réalisées en triple sur la chair issue du broyage de 10 filets.
- Tableau X** Teneurs en phospholipides (g Equivalents phosphatidylcholine) des lipides totaux de filets de chinchards préparés avec des poissons conservés sous glace (lot A) ou à 17°C (lot B).
- Tableau XI** Composition moyenne en acides gras (g/100g d'esters méthyliques d'acides gras identifiés) des lipides totaux de filets prélevés sur des chinchards conservés entiers sous glace (Lot A) ou à 17°C (Lot B).
- Tableau XII** Evolution des proportions d'acides gras saturés, monoinsaturés et polyinsaturés des lipides totaux de filets de chinchards au cours de la conservation sous glace (Lot A) ou à 17°C (Lot B) des chinchards (*Trachurus trachurus*).

- Tableau XIII** Evolution des concentrations en produits primaires de l'oxydation des lipides : diènes conjugués et hydroperoxydes, des filets de chinchards prélevés sur les chinchards conservés sous glace (A) ou à 17°C (B).
- Tableau XIV** Evolution de la concentration en sr-TBA des filets de chinchards au cours de la conservation des chinchards sous glace (lot A) ou à 17°C (lot B).
- Tableau XV** Classements par analyse sensorielle et dosage des sr-TBA des échantillons de chair préparés à partir de chinchards conservés sous glace ou à 17°C.
- Tableau XVI** Matrice des corrélations des variables d'après l'analyse en composantes principales.
- Tableau XVII** Corrélation des variables avec les composantes 1 et 2 de l'ACP.
- Tableau XVIII** Comparaison teneurs en eau, en lipides et en phospholipides des chinchards frais (lot C) et conservés 36 heures sous glace (lot D).
- Tableau XIX** Comparaison des concentrations en produits d'oxydation des lipides des chinchards « frais » (Lot C) et conservés 36 heures sous glace (Lot D).
- Tableau XX** Composition en acides gras (g/100 g acides gras totaux) des chinchards (*Trachurus trachurus*) du lot C et du surimi obtenu à partir de ces poissons.
- Tableau XXI** Teneurs en eau et en lipides des différents échantillons prélevés au cours de la fabrication de surimi à partir de chinchards « Frais » (lot C) et de chinchards conservés 36 heures sous glace (lot D).
- Tableau XXII** Teneurs en phospholipides des différents échantillons prélevés au cours de la fabrication de surimi à partir de chinchards « Frais » (lot C) et conservés 36 heures sous glace (lot D).
- Tableau XXIII** Teneurs en produits primaires de l'oxydation des lipides, diènes conjugués et hydroperoxydes (Eq CuOOH), des échantillons prélevés au cours de la fabrication de surimi à partir de chinchards « Frais » (lot C) et à partir de chinchards conservés 36 heures sous glace (lot D).
- Tableau XXIV** Concentrations en produits secondaires de l'oxydation des lipides : sr-TBA (Eq MDA), des différents échantillons prélevés au cours de la fabrication de surimi à partir de chinchards « Frais » (Lot C) et conservés 36 heures sous glace (Lot D).
- Tableau XXV** Intensités de fluorescence des Trp ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$:290/333 nm) au cours de la conservation à -20°C et -20°C sous vide de la pâte fabriquée à partir de chinchards frais (Lot C) ou conservés 36 heures sous glace (lot D).
- Tableau XXVI** Intensités de fluorescence des Trp ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$:290/333 nm) au cours de la conservation à -20°C et -20°C sous vide du surimi fabriqué à partir de chinchards frais (Lot C) ou conservés 36 heures sous glace (Lot D).

LISTE DES ABREVIATIONS

ACP	Analyse en Composantes Principales
ADN	Acide DésoxyriboNucléique
ADP	Adénosine Di-Phosphate
AGPI	Acide Gras PolyInsaturés
ANOVA	Analyse des Variances
ATP	Adénosine Tri-Phosphate
BHT	Butyl-hydroxy-toluène
CPG	Chromatographie Phase Gazeuse
CuOOH	Hydroperoxyde de cumène
DHA	Acide Docosahexaenoïque
DNP	Dinitrophenylhydrazine
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
EPA	Acide Eicosapentaenoïque
Eq	Equivalents
FID	Détecteur à Ionisation de Flamme
FOX	Ferrous Oxidation Xylenol orange
GA	Laboratoire Génie Alimentaire
HPLC	Chromatographie Liquide Haute Performance
IFREMER	Institut Français de Recherche et Exploitation des produits de la Mer
INRA	Institut National de la Recherche Agronomique
IR	Infra Rouge
LEIMA	Laboratoire d'Etude des Interactions des Molécules Alimentaires
LPD	Low Pressure Drop
LT	Lipides Totaux
MDA	Malonaldehyde
MH	Matière Humide
MS	Matière Sèche
NADH	Nicotinamide Adenine Dinucléotide
NADPH	Nicotinamide Adenine Dinucléotide Phosphate
PAI	Produit Alimentaire Intermédiaire
PC	Phosphatidylcholine
PE	Phosphatidyléthanolamine
PI	Phosphatidylinositol
RMN	Resonance Magnétique Nucléaire
SPME	Micro Extraction en Phase Solide
sr-TBA	Substances réactives à l'acide thiobarbiturique
STPP	Sel de Pentasodium Tri-Phosphate
TBA	Acide Thiobarbiturique
TBHQ	t-butylhydroquinone
TG	Triglycéride
TMA	Triméthylamine
TMAO	Oxyde de Triméthylamine
Trp	Résidus Tryptophanyle
UV	Ultra-Violet

AVANT PROPOS

Ce travail a été réalisé au Laboratoire Génie Alimentaire de l'IREER (Nantes) en étroite collaboration avec le Laboratoire d'Etude des Interactions des Mécules Alimentaires de L'INRA (Nantes). Le financement de cette thèse a été assurée par le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche du Grand Duché de Luxembourg.

Les résultats obtenus ont fait l'objet des publications suivantes :

Publication dans des revues à comité de lecture:

Eymard S. and Genot C. (20)

A modified xylenol orange method to determine lipid hydroperoxides in fatty fish. European Journal of Lipid Science and Technology, 105, 97-100.

Communications orales:

Eymard S., Genot C., Rampon Y., Chopin C. (20)

Detection of biochemical damages during frozen storage of horse mackerel surimi. Trans Atlantic Fisheries Technology Conference, Reykjavik (Iceland), 10th-14th, June 20 (résumé p 275 des proceedings).

Eymard S., Genot C., Chopin C., Bergé JP., Sérot T., Mulet JL. and Durand P (20). Lipid oxidation during manufacturing of horse mackerel surimi. 3rd EFA Meeting, Galway (Ireland), 13th-15th May 20, (résumé p 41 des proceedings).

Communications par affiche:

Eymard S.

Impact de la fraîcheur du poisson sur l'oxydation des lipides au cours du procédé de transformation du surimi de chinchards (*Trachurus trachurus*).

Communications «Junes Chercheurs» 9^{ème} Congrès de la Société Française de Génie des Procédés, Saint-Nazaire, 9-11 septembre 20 (résumé p 72 des proceedings).

INTRODUCTION

Le surimi est un produit alimentaire intermédiaire (PAI) correspondant à un concentré de protéines myofibrillaires de poisson. La fabrication du surimi est traditionnellement réalisée à partir de poissons blancs tels que le colin d'Alaska et le merlan bleu. Face à l'épuisement des stocks de ces espèces, des directives internationales ont limité leurs captures alors que la demande de surimi ne cessait de s'accroître. Face à ces contraintes, les industriels du surimi se sont orientés vers l'utilisation de nouvelles espèces abondantes et peu coûteuses. Les petits pélagiques tels que le chinchard, espèce sous exploitée, de faible valeur marchande et souvent sujet à des rejets à la mer (sur le point d'être interdits) ont été envisagés comme matière première du surimi. La production de surimi à partir de ces espèces semble en effet être une bonne voie de valorisation à l'échelle industrielle. Mais si, au vue des technologies existantes, il paraît simple de produire ce type de produit à partir de toutes espèces de poissons, les caractéristiques propres à certaines espèces et notamment aux petits pélagiques gras entraînent des problèmes de fabrication et de qualité des produits obtenus.

Les petits pélagiques gras tels que le chinchard présentent de fortes teneurs en acides gras polyinsaturés, composés très sensibles aux réactions d'oxydation. Ainsi, les difficultés rencontrées au cours du procédé de transformation sont identifiées comme étant liées en grande partie aux phénomènes d'oxydation des lipides. En effet, l'altération des lipides au cours des procédés de fabrication et de conservation entraîne l'apparition de composés conduisant à une altération des propriétés technologiques et organoleptiques du produit (couleur, odeur, texture...). Il est donc apparu important de déterminer l'ampleur des dégradations subies par les lipides du muscle de chinchard lors de la conservation des poissons et au cours du procédé de fabrication du surimi.

L'objectif de cette étude est d'identifier les étapes critiques du procédé de transformation des chinchards, afin de proposer des solutions, permettant de limiter le développement des réactions d'oxydation des lipides responsables de la dégradation du surimi au cours de sa fabrication et de sa conservation.

Dans un premier temps, le mode et la durée maximale de conservation des chinchards avant transformation ont été déterminés. Afin de prendre en compte les considérations du partenaire industriel qui envisageait de transformer les poissons soit à bord de navires usines soit à terre, les cinétiques d'oxydation des lipides du muscle de chinchard ont été étudiées pour des poissons conservés sous glace ou à température de bord du navire (17°C). Cette étude avait également pour objectif d'étalonner les différentes méthodes d'analyse disponibles et celles mises en place après avoir été adaptées aux lipides de chinchards.

Dans un deuxième temps, afin de pouvoir les contrôler ultérieurement, les étapes du procédé de transformation responsables de l'amplification des réactions d'oxydation des lipides, ont été recherchées. Ensuite, pour préciser l'impact de la qualité de la matière première sur le développement des réactions d'oxydation et sur la qualité du produit fini, du surimi a été préparé sur la chaîne pilote de transformation à partir de chinchards de qualité différente.

Enfin, les produits transformés obtenus ont été conservés à l'état congelé afin de suivre l'évolution des réactions d'oxydation des lipides au cours de la conservation des produits.

CHAPITRE 1: LE SURIMI

Contrairement à l'acceptation commune et commerciale du mot, le terme de surimi désigne la chair de poisson broyée et lavée. Le surimi est un concentré de protéines myofibrillaires de goût et d'odeur relativement neutres. Grâce à sa teneur élevée en protéines et sa faible teneur en glucides et lipides, le surimi est un ingrédient qui présente un réel intérêt sur le plan nutritionnel et diététique. Il constitue une source d'acides gras oméga 3 favorables au bon fonctionnement du système cardiovasculaire.

Le surimi est un produit alimentaire intermédiaire (PAI), utilisé comme ingrédient de base dans la fabrication de très nombreux produits tels que les analogues de produits de la mer : coquilles Saint-Jacques, crabes, bâtonnets de poisson... Pour préparer ces produits, le surimi est gélifié par addition de sel suivi d'une thermocoagulation. Chaque fabricant élabore ses propres recettes en variant les proportions des ingrédients ajoutés au surimi : amidon, blanc d'œuf, farine, huile végétale, sel... Les produits traditionnels à base de surimi sont également nombreux et se différencient surtout par leur mode de cuisson : ils sont cuits à la vapeur pour le kamaboko, cuits au four dans le cas du chikuwa, cuits dans l'eau bouillante pour le hamren, frits dans l'huile pour l'agekama. Le kamaboko correspond à la forme commerciale la plus couramment rencontrée sous le terme de surimi.

I- EVOLUTION DE L'INDUSTRIE DU SURIMI

I-1- Contexte économique

La technique de préparation du kamaboko remonte aux XII^{ème} siècle lorsque les pêcheurs japonais ont constaté que la chair de poisson lavée se conservait plus longtemps une fois pétrie avec du sel et cuite à la vapeur.

La production de surimi a fortement augmenté au cours des années 60. La production totale de kamaboko et de saucisse de poisson au Japon est ainsi passée de 509 000 tonnes en 1960 à 1 187 000 tonnes en 1973 (Okada, 1992). Cette forte augmentation de la production de surimi

a résulté de la découverte, par une équipe du laboratoire « Hokkaido Fisheries », des propriétés stabilisatrices des cryoprotecteurs pour préserver les propriétés fonctionnelles des protéines au cours de la congélation (Tamato et coll., 1961). Les firmes japonaises ont alors pu utiliser en masse le colin d'Alaska (*Alaska pollock*) car les cryoprotecteurs permettaient de stocker à bord le surimi à l'état congelé. Les navires usines de fabrication du surimi se sont alors développés.

Un autre fait marquant dans l'industrie du surimi a été « l'américanisation » des pêches après 1976 lorsque les Etats Unis ont déclaré zone économique exclusive la zone de pêche la plus abondante en colin d'Alaska, déplaçant les navires japonais et les remplaçant par des armements américains. Le surimi qui au départ était un produit typiquement japonais, est aujourd'hui fabriqué et consommé dans de nombreux pays notamment en Asie du Sud Est, en Corée, en Chine, en Russie, en Amérique du Nord, au Chili, en Argentine, en Europe de l'Ouest (essentiellement France et Espagne) (Mansfield, 2003). Aujourd'hui, les Etats Unis sont les plus gros producteurs de surimi et 75% de leur production provient de la transformation du lieu d'Alaska. En 2001, les Etats Unis ont exporté 979 216 tonnes de produits de la mer frais et congelés d'une valeur marchande évaluée à 2,2 milliards de dollars. Le surimi représentait 18,5 % de ces exportations soit une valeur marchande évaluée à 297,6 millions de dollars (NMFS, 2001). Le marché mondial du surimi représentait 1,1 million de tonnes en 2001 (ADISUR, 2002).

Depuis 1997, les importations de surimi-base des pays de l'Union Européenne ont progressé de 21% par an pour atteindre près de 24 000 tonnes en 2002 (CFCE). Les principaux pays fournisseurs de l'Union européenne sont les Etats-Unis (54 %), le Chili (18 %), l'Inde (6%), le Canada (5 %) et la Thaïlande (4%). Les importations européennes de produits à base de surimi plafonnent depuis un an autour de 60 000 tonnes (Linéaires, N°182, Juin 2003). Au sein de l'Union Européenne, la production de surimi-base est réduite, elle est réalisée principalement à partir de merlan bleu mais plusieurs projets sont à l'étude pour fabriquer du surimi base à partir de poissons bleus, chinchards en particulier (CFCE). La production de produits transformés à base de surimi a fortement augmenté : +12 % pour atteindre 60 000 tonnes en 2002. La production de produits à base de surimi en France est essentiellement orientée vers les produits frais tandis qu'en Espagne elle ne concerne que du surgelé. Ces productions en France et en Espagne couvrent la majeure partie des consommations nationales : 90 et 60 % respectivement (CFCE). Les exportations demeurent très limitées.

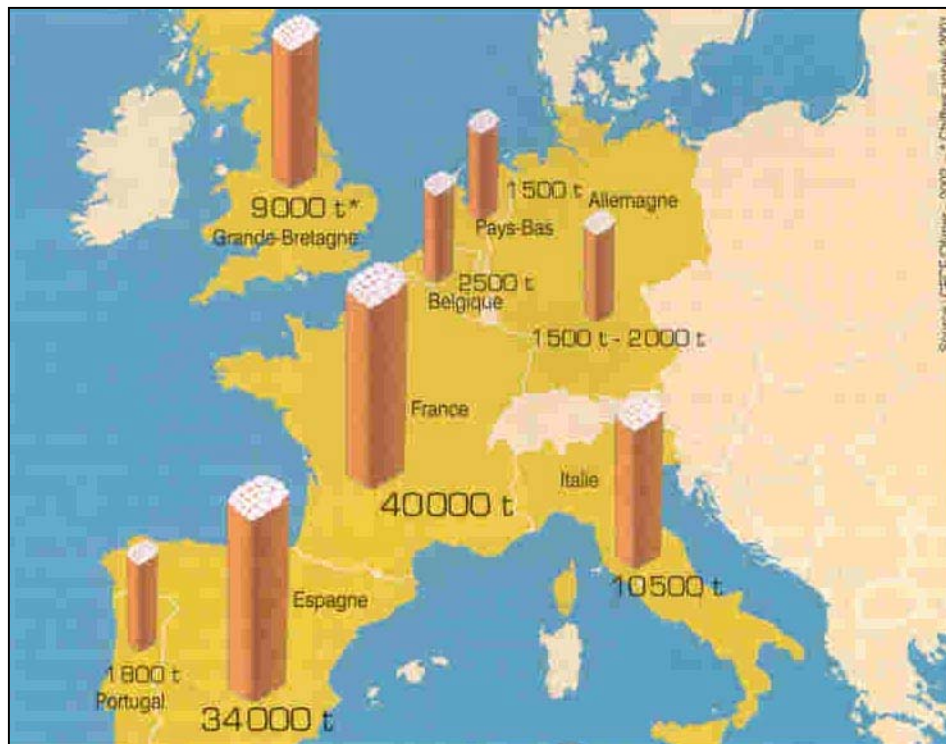


Figure 1 Répartition en volumes de la consommation de produits à base de surimi en Europe. D'après Linéaires, N°182, Juin 2003.

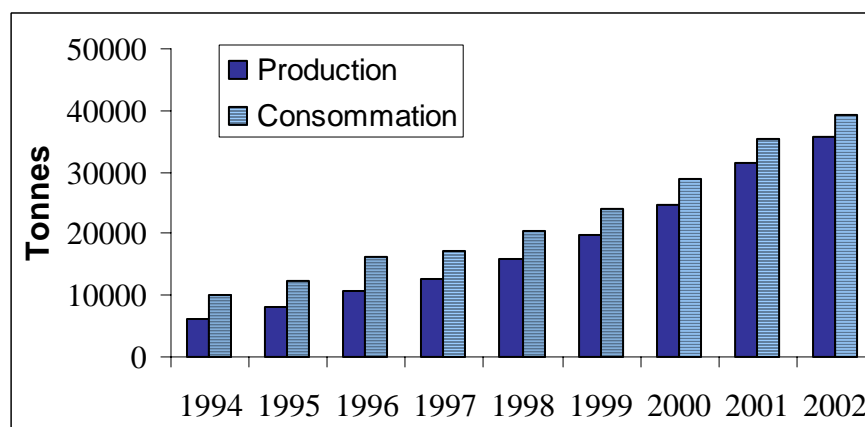


Figure 2 Evolution de la production et de la consommation de préparations à base de surimi en France, d'après données ADISUR (2003).

La consommation de produits à base de surimi dans l'Union européenne a progressé de 81% entre 1997 et 2002, année pour laquelle elle atteint près de 110 000 tonnes. L'Espagne et la France représentent les 2/3 de la consommation européenne (Figure 1).

En France le marché du surimi est en pleine croissance, il représente le premier secteur (39 % en 2001) du marché des produits « traiteurs de la mer ». Entre 1994 et 2002, la consommation de préparation à base de surimi en France a triplé, elle est passée de 10 200 tonnes en 1994 à 39 434 tonnes en 2002, soit une progression de 11 % par rapport à 2001 (Figure 2). En réponse à cette demande croissante, la production a atteint 35 572 tonnes en 2002, soit une hausse de 12,6 % par rapport à 2001 (Adepale, 2002). En 2002, les ventes totales des fabricants français de surimi ont progressé de 12 % en volume et de 10 % en valeur pour un chiffre d'affaires global de 193 millions d'euros. Cette forte progression reflète le dynamisme du marché national.

En 2001, les importations de surimi en France représentaient 17 220 tonnes dont 65 % de surimi base et 35 % de produits transformés. L'importation de surimi base a augmenté d'environ 33 % en 2002 pour atteindre 14 823 tonnes alors que les importations de surimi transformé, 6 112 tonnes en 2002, sont restées à un niveau quasiment équivalent à celui de 2001 (Commère, 2002). Les Etats Unis sont les plus gros fournisseurs de surimi base avec 64 % et 68 % du marché en 2001 et 2002 respectivement.

Les exportations françaises de surimi-base restent limitées avec 536 tonnes en 2002 pour 1,3 millions d'euros. Elles sont réalisées essentiellement vers la Lituanie, l'Espagne et le Royaume Uni. Les exportations de surimi transformé s'élèvent à 1 608 tonnes en 2002 pour 6,2 millions d'euros soit une baisse de 19,8 % par rapport à 2001. Elles sont principalement réalisées à destination de l'Espagne qui absorbe 79 % des livraisons (Adepale, 2002).

Le marché du surimi est en pleine croissance. Les nouveaux modes de consommation alimentaire imposent des produits faciles à préparer et à consommer de qualité constante. La gamme des produits à base de surimi ne se limite plus au bâtonnet mais s'élargit vers des produits plus élaborés et sophistiqués orientés sur le « snacking » et les produits de consommation hors domicile. L'augmentation du marché du surimi induit une augmentation du besoin en matières premières. Cependant, les ressources naturelles ne sont pas inépuisables et sont soumises à des quotas de pêche. La recherche de nouvelles ressources s'est donc progressivement imposée aux industriels du surimi.

I-2- Origines de la matière première

Le lieu d'Alaska (*Theragra chalcogramma*) constitue la matière première la plus utilisée pour la fabrication du surimi. Avant les années 60, ce poisson était exploité par les firmes japonaises uniquement pour la valorisation des œufs. Mais après prélèvement des œufs, les poissons avaient une faible valeur et la fabrication de surimi est apparue comme une bonne voie de valorisation (Osaka, 1992). Cette espèce constitue une matière première de choix pour la fabrication du surimi. En effet, il s'agit d'un poisson à chair blanche, insipide, de taille homogène, pouvant être capturé en masse par des navires côtiers ou industriels. Ses protéines musculaires possèdent une très bonne capacité de gélification permettant d'obtenir un produit de grande qualité (Holmes et coll. 1992). Ces principales zones de pêche sont situées dans la partie Est de la mer de Béring en Alaska et en mer d'Okhotsk en Russie. Le lieu d'Alaska représente le plus gros tonnage des poissons blancs dans le monde. Cependant, les captures ont diminué depuis 1989 en raison de la diminution des stocks liée à des années de surexploitation et à la mise en place de restrictions gouvernementales (quotas).

La nécessité d'identifier de nouvelles matières premières pour la fabrication du surimi s'est alors imposée aux industriels des pays producteurs. Ceux-ci se tournent de plus en plus vers des ressources locales abondantes et peu exploitées. La mise en place de technologies innovantes, telles que des nouvelles techniques de lavage, ou l'addition de transglutaminases pour augmenter la force de gel des produits obtenus avec certaines espèces, a permis d'envisager l'utilisation de ces nouvelles ressources. Une soixantaine d'espèces de poissons comprenant notamment des requins et des poissons d'eau douce a été testée à travers le monde pour la fabrication du surimi (Spencer & Tung, 1994). Les espèces les mieux adaptées à cette transformation sont les espèces de poissons blancs à faible teneur en lipides tels que le hoki (*Macruronus navaezelandiae*) de Nouvelle Zélande, le merlan bleu du sud (*Micromistius australis*) du Chili et d'Argentine, le merlan bleu du nord (*Micromistius poutassou*) de la CEE, la cohana japonaise (*Nemipterus japonicus*) de Thaïlande...

Avant 1990, l'utilisation du merlan du pacifique (*Merluccius productus*), une autre espèce de poisson blanc, était limitée du fait de la présence au sein du muscle de protéases qui dénaturent les protéines myofibrillaires limitant alors les propriétés fonctionnelles des protéines. Dès lors que des inhibiteurs des protéases ont été utilisés, au cours des années 90, la production du surimi à partir de cette espèce s'est fortement développée et représente aujourd'hui environ 20 % de la production de surimi au Etats Unis. Cependant, de part son

origine, l'inhibiteur protéasique, issu du plasma de bœuf, devra être remplacé. De plus, l'exploitation du merlan bleu est désormais limitée par les quotas de pêche.

Des espèces abondantes et sous exploitées, riches en muscle brun et/ ou en lipides telles que : le saumon rose (*Oncorhynchus gorbuscha*), les maquereaux et sardines peuvent également être utilisées pour la fabrication de surimi. Cependant, de part leurs caractéristiques physiologiques et biochimiques, la transformation de ces espèces produit jusqu'à présent un surimi de qualité inférieure à celle obtenue pour le surimi de poisson blanc. Le surimi-base issu de ces espèces présente un aspect légèrement coloré qui rend son utilisation difficile pour les produits type bâtonnet. Néanmoins, le développement important du marché de nouveaux produits à base de surimi cuit ou frit permet d'envisager l'utilisation d'un surimi-base qui serait d'aspect moins neutre que celui obtenu pour du surimi fabriqué à partir de poissons blancs. Ainsi, alors que le kamaboko est produit à partir de 70 % de surimi de haute qualité, des produits frits de type agekama ne sont fabriqués qu'à partir de 10 % de surimi de haute qualité. De plus, le développement de la gamme des ingrédients et des technologies de formulation permet la production de produits transformés de bonne qualité à partir de surimi-base de qualité moyenne. Ainsi, la demande pour du surimi ne répondant pas aux standards actuels recherchés pour un surimi de « haute qualité » ne cesse d'augmenter notamment en Thaïlande (Mansfield, 2003). Ces nouveaux marchés favorisent la mise en place de nouvelles technologies de fabrication du surimi à partir d'espèces de poisson abondantes et peu exploitées telles que les petits pélagiques gras.

II- PROCÉDES DE FABRICATION DU SURIMI

II-1- Indices de qualité du surimi

La qualité du surimi est déterminée par la qualité du kamaboko obtenu à partir du surimi. Les industriels japonais utilisent un mode de classement basé sur la teneur en eau et les tests de pliage et de rupture (Lee, 1984). Une méthode standard pour la détermination de la qualité du surimi a été établie en 1991 (Lanier, 1992). Elle est basée sur des critères permettant la caractérisation des propriétés biochimiques et fonctionnelles et sur la qualité microbiologique du surimi. La qualité du surimi est déterminée par l'échelle comportant

Tableau I Critères d'évaluation sensorielle de la texture du kamaboko.

Note	Critères
10	Extrêmement ferme
9	Très ferme
8	Ferme
7	Légèrement ferme
6	Normal
5	Légèrement mou
4	Mou
3	Très mou
2	Extrêmement mou
1	Fragile

Tableau II Critères d'évaluation de la qualité du kamaboko par le test de pliage (d'après Lanier,1992).

Catégorie	Conditions
AA	Aucune cassure après avoir plié la rondelle de surimi en 2 puis en quatre
A	Certaines cassures après avoir plié la rondelle en 4
B	Cassures progressives après avoir plié la rondelle en 2
C	Cassures immédiate après avoir plié la rondelle en 2
D	Fiable sous les doigts

quatre niveaux: classe supérieure (S ou SA), première classe (AA ou A), deuxième classe (B) et hors classe (C).

Les analyses biochimiques permettant d'évaluer les propriétés biochimiques du surimi sont les teneur en protéines, en eau, en lipides et la mesure du pH. Un autre critère est la teneur en contaminants résiduels comme la peau, la membrane périsvère, les arêtes. Le critère est exprimé en unité de contaminants par cm² de surimi.

Les propriétés fonctionnelles entrant dans la détermination de sa qualité sont sa texture, sa couleur, son odeur évaluée après formation du gel (addition de sel au surimi suivie d'une thermocoagulation). La texture peut être évaluée à l'aide de tests rhéologiques ou par analyse sensorielle (Tableau I). Ils sont réalisés à l'aide de texturomètres ou à des viscosimètres. Les tests rhéologiques sont basés sur l'enregistrement des forces nécessaires à la déformation par compression, étirement, ou à la rupture du réseau gélifié. Ils sont réalisés à l'aide de texturomètres ou de viscosimètres. Des grandeurs telles que la fermeté, la rigidité, l'élasticité, l'adhésion du gel sont ainsi mesurées. Un des tests couramment employés au Japon utilise la technique de pliage. Il consiste à plier puis à presser entre le pouce et l'index une rondelle de kamaboko de diamètre et d'épaisseur définie. La qualité du gel est alors évaluée en fonction du nombre de pliures nécessaire à la rupture du gel, plus la rondelle se déchire tard, meilleure est la qualité du produit (Tableau II).

La couleur du produit est mesurée à l'aide d'un colorimètre étalonné dans le système **Lb*** permettant de restituer la teinte et la clarté des échantillons. La valeur de **L** définit la luminance sur une échelle de 0 à 100 allant du noir au blanc. Celle de **a** caractérise l'intensité de rouge dans les valeurs positives et le vert dans les valeurs négatives. La valeur de **b** caractérise l'intensité de jaune dans les valeurs positives et le bleu dans les valeurs négatives. Généralement le surimi possède une luminance (**L**) de 50 et des valeurs de **a** et **b** proches de zéro.

La qualité microbiologique du produit est également déterminée. La contamination bactérienne provient de la flore initialement présente dans la matière première et/ou de contaminations intervenant au cours du procédé, par le biais des hommes et des machines (Lee, 1992). Les étapes du procédé, notamment le broyage de la chair, favorisent la dissémination des microorganismes au sein des matières. Le nettoyage rigoureux de la chaîne de production est primordial afin d'éviter la formation de biofilm bactérien.

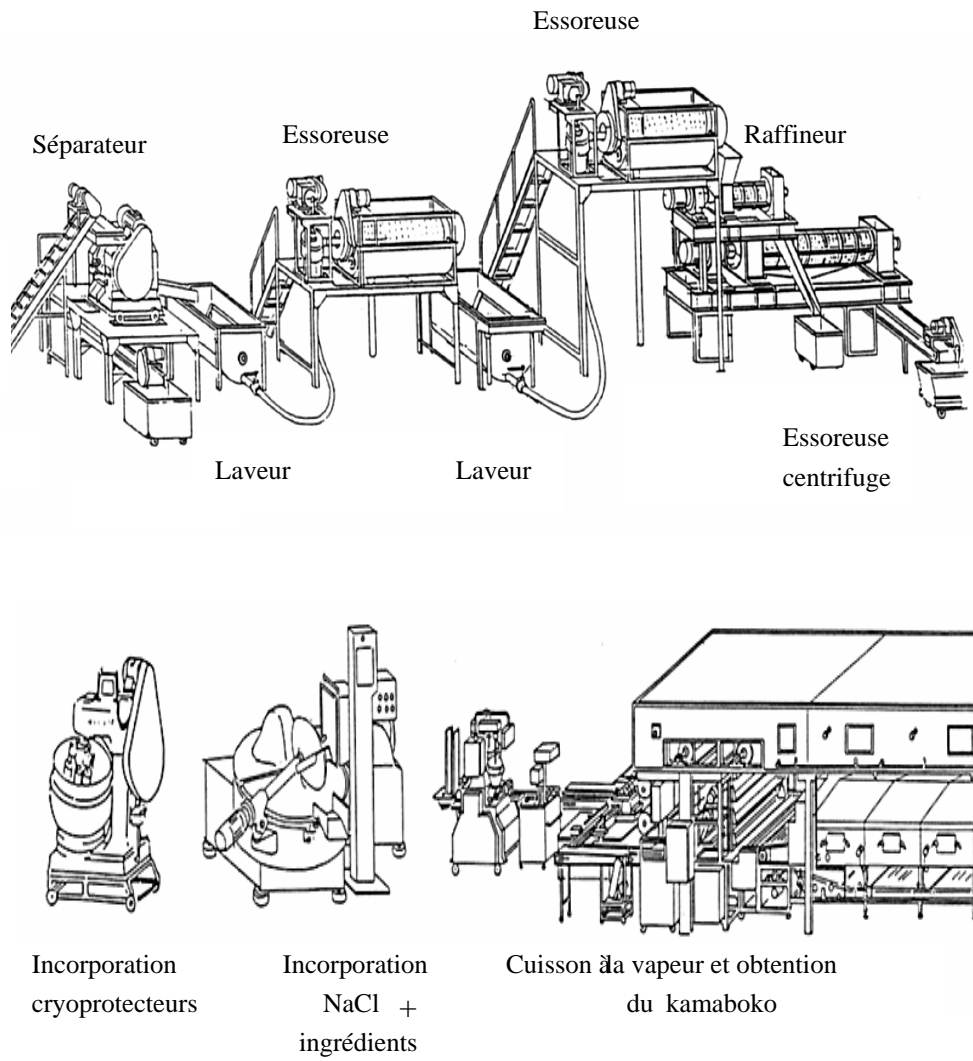


Figure 3 Principales étapes de la fabrication du surimi (d'après Toyoda et coll.,1992).

II-2- Procédé de transformation des poissons blancs

Le but du procédé de transformation est d'obtenir un produit stable à partir de pulpe de poisson. Les principales étapes de fabrication sont présentées Figure 3.

II-2-1- L'étêtage et l'éviscération

Ces étapes doivent être réalisées rapidement après la capture afin d'éviter l'action des protéases intestinales sur les protéines musculaires et l'altération par les microorganismes présents aux sein des viscères (Toyoda et coll., 1992). Afin d'éviter des inclusions noires induisant une altération de l'aspect du surimi, la membrane viscérale noire doit être entièrement enlevée.

II-2-2- Broyage des filets

La chair de poisson est obtenue par un processus de séparation mécanique. Les deux tiers de la chair de poisson sont constitués par les protéines myofibrillaires, constituants essentiels du surimi et responsables de la formation du réseau gélifié. Le tiers restant est représenté par les protéines sarcoplasmiques, les protéines du tissu conjonctif, le sang, la myoglobine et les lipides, constituants impliqués dans les processus d'altération du surimi (Park & Morrisey, 2000).

Au cours du procédé, la chair est en partie déstructurée à l'aide d'un séparateur mécanique en continu tandis que les arêtes et une partie de la peau sont retenues et éliminées durant cette étape. Le séparateur mécanique traditionnellement utilisé est constitué d'un cylindre perforé sur lequel les poissons (étêtés et éviscérés) ou les filets sont écrasés par la pression exercée par un ruban ou une vis. La chair qui est pressée à l'intérieur du cylindre suit la chaîne de transformation tandis que la peau et les arêtes sont éliminées à l'extérieur du cylindre. Le diamètre des perforations du cylindre varie entre 3 et 6 mm en fonction du poisson transformé : espèce, taille, état de fraîcheur, et de la qualité de surimi souhaitée (Toyoda et coll., 1992). Lorsque le poisson étêté et éviscéré passe sur ce type de machine, des résidus de viscères et du sang sont mélangés avec la chair entraînant une perte de qualité du produit fini. Il est préférable de passer les filets dans la machine en prenant soin d'orienter la face du filet vers les perforations. Cette technique a un moins bon rendement que celles

utilisant les poissons entiers mais aboutit à un surimi de meilleure qualité (Toyoda et coll., 1992 ; Park & Morrissey, 2000).

II-2-3- Lavages

Les étapes de lavage sont des étapes clef du procédé de transformation du surimi (Hall & Ahmad, 1992). Leur objectif est d'éliminer les constituants indésirables et de concentrer le produit en protéines myofibrillaires (actine, myosine) dotées de propriétés gélifiantes. Les lavages permettent d'éliminer le sang, les composés solubles de faible masse moléculaire, les protéines sarcoplasmiques, des enzymes, les lipides et certains composés azotés non protéiques indésirables. L'intensité du lavage est déterminante pour les propriétés de gélification, la couleur et l'odeur du surimi. Le nombre de lavages et le volume d'eau utilisés varient en fonction de l'espèce de poisson, de son état de fraîcheur, de la chaîne de transformation, et de la qualité de surimi désirée (Lee, 1984). En général, le procédé comprend trois cycles de lavage de 10 minutes avec une proportion eau/chair de 3/1 ou 4/1 (Hall & Ahmad, 1992).

Chaque cycle est composé d'une opération d'homogénéisation de la chair avec de l'eau froide (4 à 5°C) suivie d'une étape essorage. La qualité et le pH de l'eau sont des facteurs importants. Une eau trop dure avec la présence d'ions comme le calcium et le magnésium ou comme le fer et le manganèse affecte respectivement la texture et la couleur du produit fini (Hall & Ahmad, 1992).

II-2-4- Raffinage

La pulpe, lavée et essorée, est tamisée afin d'éliminer les fragments résiduels de peau, de tissu conjonctif, d'arêtes et d'écaillés. Cette étape permet d'obtenir un produit composé quasi-uniquement de protéines myofibrillaires bien dispersées. Elle est réalisée avec un raffineur constitué d'un tamis cylindrique perforé, les perforations ayant un diamètre de 1 à 3 mm, et d'un rotor à pales. La chair est poussée à travers les perforations par le rotor et les impuretés sont éliminées. Les points critiques de cette étape sont liés à la difficulté d'éliminer le maximum d'impuretés tout en gardant un rendement correct. De plus, cette étape nécessite un contrôle de la température, celle-ci augmentant au cours du raffinage.

II-2-5- Essorage final

L'essorage final de la pulpe permet d'obtenir un concentré protéique présentant une teneur en eau de l'ordre de 82 à 85 % (p/p).

II-2-6- Incorporation des cryoprotecteurs

Afin de limiter la dénaturation des protéines au cours de la conservation du surimi à l'état congelé, des substances cryoprotectrices sont incorporées (Sych et coll., 1990). En absence de cryoprotecteurs, les protéines sont dénaturées induisant une détérioration de la texture, de la flaveur et de la couleur du produit (Mackie, 1993 ; Shenouda, 1980).

Cette dénaturation protéique résulte de l'agrégation des protéines myofibrillaires par formation de liaisons hydrogènes, ioniques et hydrophobes, et de ponts disulfures. L'eau joue un rôle important dans ces phénomènes de dénaturation. Lors de la congélation, une fraction importante de l'eau présente dans l'échantillon change d'état et une concentration des solutés se produit dans la fraction qui reste à l'état liquide. La force ionique et le pH de l'environnement des protéines changent provoquant une déshydratation et des changements de conformation (Shenouda, 1980 ; Hall & Ahmad, 1992). D'autres réactions interviennent au cours de la conservation telles que l'oxydation des lipides produisant des composés susceptibles d'interagir avec les protéines.

Les cryoprotecteurs agiraient en protégeant les protéines de la dénaturation induite par la congélation. Ils pourraient également stabiliser la structure native de la protéine pour des raisons thermodynamiques, soit diminuer la température de transition vitreuse en deçà de laquelle les réactions mettant en jeu des processus diffusionnels sont réduites au minimum (Genot, 2000).

Les cryoprotecteurs sont traditionnellement composés de saccharose et sorbitol, seuls ou en mélange, à une concentration finale d'environ 9 % (p/p). Un mélange (1/1) de tripolyphosphate de sodium et de pyrophosphate tétra sodium est ajouté à la pâte (0,2-0,3 % (p/p)) en plus des sucres. Park et coll. (1988) ont obtenu un bon effet cryoprotecteur d'un mélange polyols, maltodextrine, sucres et phosphate incorporé au colin d'Alaska (*Theragra chalcogramma*). Une grande variété de cryoprotecteurs a été testée notamment afin de limiter le goût sucré (indésirable pour les consommateurs des pays de l'ouest), l'apport calorique et le coût des substances. Différentes classes de cryoprotecteurs : sucres, polyols, hydrolysats

protéiques et hydrocolloïdes, ont été testées sur du surimi de cabillaud par Sych et coll. (1990). Le meilleur effet cryoprotecteur a été obtenu pour l'utilisation du sirop de glucose, de saccharose, de sorbitol ainsi qu'avec le mélange saccharose/sorbitol 1/1 (w/w) incorporés à une concentration de 8 % (p/p) au surimi.

L'utilisation de mélanges composés de cryoprotecteurs de haut (Litesse™) et de faible poids moléculaires (saccharose, sorbitol, lactitol) a permis de réduire le coût et le goût sucré induits par les cryoprotecteurs (Sultanbawa & Li-Chan, 1998).

L'incorporation des cryoprotecteurs se fait en fin de procédé à l'aide d'un mélangeur, sous vide et réfrigéré, afin de préserver les propriétés fonctionnelles des protéines (Park & Morrissey, 2000). Dans le cas de la transformation du merlan bleu, des inhibiteurs protéasiques sont ajoutés à la pâte en même temps que les cryoprotecteurs.

II-2-7- Congélation et emballage

Des blocs de 10 kg de surimi emballés sous plastique sont placés dans des congélateurs à plaques durant environ 2 heures 30 jusqu'à ce que la température interne du bloc s'abaisse à -25°C. Deux plaques de surimi sont ensuite emballées dans un carton et conservés à l'état congelé (-18°C) au maximum 6 mois.

III- LES PETITS PELAGIQUES

Les poissons pélagiques représentent 40 à 50 % des captures totales mondiales. Ces espèces, telles que les petits pélagiques gras ou poissons bleus : chinchards, sardines, maquereaux, sont abondantes mais peu exploitées. De plus, les nouvelles directives interdisent le relargage à la mer des écarts de pêche fréquents pour ces espèces et notamment le chinchard. Ces espèces représentent une matière première de faible coût comparé notamment à celui des poissons blancs tel que le colin d'Alaska traditionnellement utilisé pour la fabrication de surimi. La fabrication de surimi à partir de ces espèces apparaît par conséquent comme une voie intéressante de valorisation.



Figure 4 Chinchard commun (*Trachurus trachurus*).

Les données concernant le chinchard, le maquereau et la sardine sont extraites de l'ouvrage de Quero & Vayne (1997).

III-1- Le Chinchard (*Trachurus trachurus*)

Le chinchard (Figure 4) appartient à la classe des Actinoptérygiens, à l'ordre des Perciformes et à la famille des Carangidés.

Le chinchard commun (*Trachurus trachurus*) évolue en Atlantique Est de la Norvège à l'Afrique du Sud, en Méditerranée, en mer Noire et en Atlantique Centre-Ouest. Le chinchard à queue jaune (*Trachurus mediterraneus*) évolue en Atlantique Ouest : du Golfe de Gascogne au Maroc, en mer Méditerranée, en mer Noire, en mer de Marmara, en Atlantique Nord-Ouest, océan Indien Est, Australie et Japon. Le chinchard commun fréquente tout le plateau continental et le bord du talus (-10 à -500 m). Le chinchard à queue jaune fréquente surtout la côte et pénètre dans les estuaires. La taille du chinchard commun varie de 15 à 45 cm, celle du chinchard à queue jaune de 30 à 60 cm. Le chinchard acquiert sa première maturité sexuelle au cours de sa troisième année chez le mâle, vers 4 à 5 ans chez la femelle. La ponte a lieu de mars à août. Les larves se nourrissent essentiellement de copépodes. Les adultes avalent des poissons (anchois, sprat, sardine...), des céphalopodes et des crustacés.

III-2- Le maquereau commun (*Scomber scombrus*)

Le maquereau commun (*Scomber scombrus*) appartient à la classe des Actinoptérygiens, à l'ordre des Perciformes et à la famille des Scombridés.

Il évolue en Atlantique Nord-Est, de l'Islande et du Nord de la Norvège jusqu'au Maroc. Il évolue également en Méditerranée, en mer Noire, mer Baltique, mer Blanche et Atlantique Nord Ouest. Le maquereau vit sur le plateau continental de la surface jusqu'à 200-250 m de profondeur. C'est un poisson grégaire, vivant en bancs compacts en pleine eau souvent près de la surface. Sa taille moyenne est de 12-35 cm avec une taille maximale de 50 cm. Il acquiert sa maturité sexuelle à l'âge de 3 ans. La période de reproduction du maquereau varie de mars à juillet en fonction de sa répartition géographique. Les adultes se nourrissent de crustacés pélagiques et au cours de l'été et de l'automne ingèrent des petits poissons pélagiques (sprats, sardines, hareng).

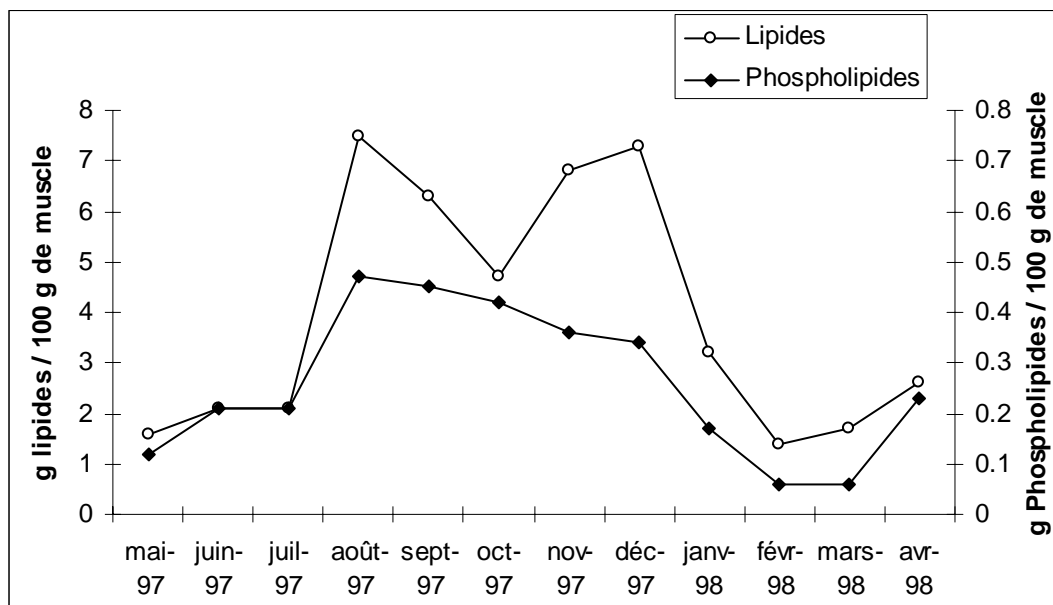


Figure 5 Variations des teneurs en lipides (g de lipides pour 100 g de muscle) et en phospholipides (g de phospholipides pour 100 g de muscle) du muscle de chinchard (*Trachurus trachurus*) au cours d'une année. D'après Bandarra et coll., (2001).

Le maquereau se capture en pêche industrielle, surtout au chalut pélagique, et en pêche artisanale à la ligne et à la senne tournante. C'est un poisson commercialisé à l'état frais et en conserve.

III-3- La sardine commune (*Sardina pilchardus*)

La sardine commune (*Sardina pilchardus*) appartient à la classe des Actinoptérygiens, à l'ordre des Clupéiformes et à la famille des Clupéidés. La sardine commune évolue en Atlantique Nord-Est, de la Norvège à l'Écosse jusqu'au Sénégal, et en Méditerranée. C'est un poisson pélagique qui vit entre la surface et le fond dans les eaux côtières jusqu'à 120 m de profondeur. La sardine vit en bancs parfois importants, près de la surface la nuit et plus profondément le jour. Sa taille moyenne est de 10-20 cm avec une taille maximale de 25 cm. La sardine fraie toute l'année et les périodes de pontes varient selon la répartition géographique. Les sardines adultes se nourrissent de crustacés planctoniques mais également de larves de crabes.

La sardine est pêchée à la bollinche et, de plus en plus, au chalut pélagique. Elle est consommée fraîche, salée, parfois fumée mais principalement en conserve.

IV- CARACTERISTIQUES PARTICULIÈRES DES PETITS PELAGIQUES GRAS INDUISANT DES DIFFICULTÉS POUR LA FABRICATION DU SURIMI

IV-1- Hétérogénéité de la matière première

IV-1-1- Variations saisonnières

Les facteurs environnementaux tels que la saison, la nourriture disponible et la température de l'eau ainsi que l'état physiologique des animaux comme par exemple l'âge, le stade sexuel, génèrent de fortes variations de taille et de composition induisant une hétérogénéité de la matière première au cours de l'année. La teneur et la nature des lipides du muscle de poisson gras varient fortement en fonction des saisons. La teneur en lipides des chinchards (*Trachurus trachurus*) peut varier de 1,4 g de lipides pour 100 g de chair en février à 7,5 g de lipides pour 100 g de chair en août. La teneur en phospholipides au sein du muscle évolue de la même manière (Figure 5). La teneur en eau évolue de façon inversement

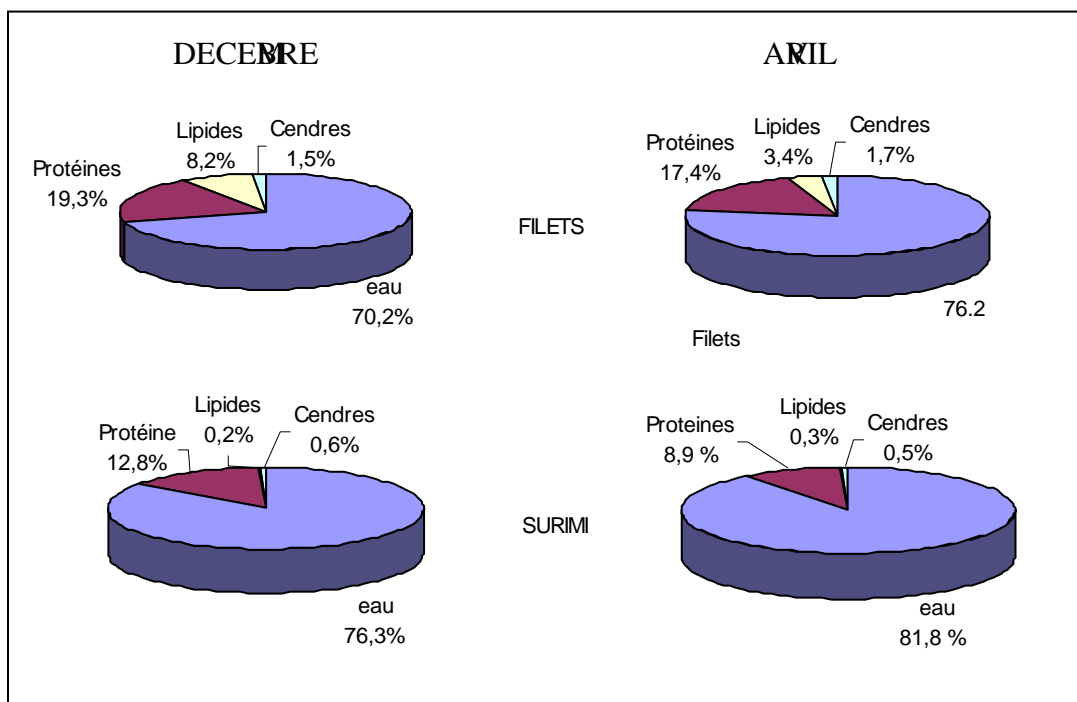


Figure 6 Influence des variations saisonnières sur la composition biochimique des filets, de la chair et du surimi de sardines (*Sardina pilchardus*). D'après Nunes et coll. (1992).

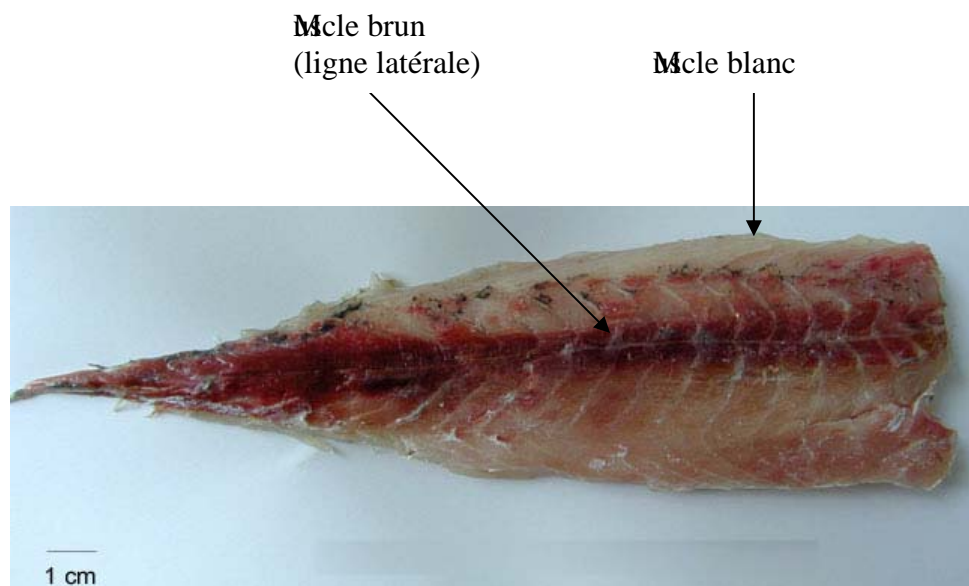


Figure 7 Photographie de la face dorsale d'un filet de chinchard (*Trachurus trachurus*).

proportionnelle à la teneur en lipides tandis que la teneur en protéines reste constante (Bandarra et coll., 2001).

La teneur en lipides de sardines (*Sardina pilchardus*) pêchées près des côtes portugaises varie au cours de l'année de façon encore plus importante que celle du chinchard. Les sardines peuvent présenter une teneur maximale en lipides de 18 g de lipides pour 100 g de chair en septembre et octobre, saison correspondant à une période abondante en nourriture. Les teneurs les plus faibles, 1,2 et 1,3 g de lipides pour 100 g de chair, ont été mesurées en mars et avril, saison correspondant à la période de frai (Bandarra et coll., 1997). La teneur en protéines myofibrillaires au sein des muscles de sardine varie également en fonction des saisons. Une plus forte proportion en protéines myofibrillaires au sein des muscles de sardines induit une proportion plus élevée de ces mêmes protéines au sein du surimi (Nunes et coll., 1992b). Les variations de la composition biochimique de la matière première ont un impact direct sur les propriétés biochimiques du surimi (Figure 6). Les variations des teneurs et de la nature des protéines influencent les propriétés de gélification du surimi (Shimizu et coll., 1992).

IV-1-2- Muscles blancs et muscles bruns

Les pélagiques gras ou poissons bleus présentent une plus forte proportion de muscle brun et une couleur de muscle blanc plus foncée que les poissons blancs. La forte proportion de muscle brun des pélagiques gras est responsable d'une des principales difficultés rencontrées pour la fabrication de surimi à partir de ces espèces (Hultin & Kelleher, 2000). Ce type de muscle est particulièrement développé chez le chinchard : 8,6 g de muscle brun pour 100 g de muscles totaux, le maquereau : 15 g de muscle brun pour 100 g de muscles totaux et la sardine : 24 g de muscle brun pour 100 g de muscles totaux, alors qu'il est présent en plus faible proportion chez les poissons maigres, 0,5 g de muscle rouge pour 100 g de muscles totaux de cabillaud (Shimizu et coll. 1992; Suzuki & Watabe, 1986). La couleur foncée des muscles des poissons gras (Figure 7) a pour conséquence la production de surimi dont la couleur ne correspond pas aux attentes du consommateur (Shimizu et coll., 1992). Les pigments responsables de la couleur de la chair sont représentés à 90 % par la myoglobine, les autres pigments étant l'hémoglobine et des cytochromes. Le muscle blanc des poissons maigres contient environ 6 mg de myoglobine et d'hémoglobine pour 100 g de muscle alors que dans le cas des poissons gras (sardine et maquereau), ce taux atteint 20 mg pour 100 g de muscle. Ainsi, le muscle blanc des poissons gras est plus sombre que celui des

poissons blancs car il contient plus de pigments héminiques. Le muscle rouge des poissons gras (sardine et maquereau) contient un taux d'héme d'environ 500 mg pour 100 g de muscle (Shimizu et coll., 1992).

Les différences entre le muscle blanc et le muscle brun sont inhérentes à la fonction physiologique de ces muscles. Les muscles blancs contiennent une majorité de fibres musculaires qui présentent un métabolisme de type glycolytique. Les fibres glycolytiques sont riches en glycogène et pauvres en lipides. Elles sont peu vascularisées, contiennent peu de myoglobine et de mitochondries. L'énergie provient essentiellement de la dégradation du glucose par la voie de la glycolyse. *Post mortem*, l'ATP est rapidement dégradée par la forte activité ATPasique myofibrillaire, le glucose est alors dégradé par la voie anaérobie pour former de l'acide lactique. Ce type de muscle est majoritaire et permet les contractions intenses pendant les brèves périodes de fuite ou de chasse.

Les muscles rouges présentent un métabolisme de type oxydatif, ils contiennent une majorité de fibres à contraction lente dont l'activité ATPasique est faible. Ces fibres sont pauvres en glycogène et tirent leur source d'énergie essentiellement de la β -oxydation des acides gras. Ce métabolisme explique la forte teneur en lipides des muscles rouges des poissons gras. L'autre substrat utilisé pour la production d'énergie par les muscles bruns est l'oxygène transporté par les cellules sanguines, induisant une forte concentration en hémoglobine et myoglobine dans les muscles bruns.

IV-2- Altération rapide de la chair

La chair de poisson ne présente pas d'odeur désagréable quand le poisson est très frais, mais cette chair s'altère très rapidement. Chez les poissons gras, les principaux composés responsables des mauvaises odeurs sont des composés carbonylés issus de l'oxydation des lipides. La triméthylamine (TMA), issue de la dégradation des oxydes de triméthylamine (TMAO) est responsable aussi de mauvaises odeurs mais elle est peu présente chez les poissons gras.

Chez le poisson, les phénomènes d'apparition et de résolution de la rigidité cadavérique sont rapides. L'évolution du muscle après la mort peut être divisée en quatre phases :

- la phase *pré-rigor* dite d'excitabilité musculaire et de contraction fibrillaire
- la phase de rigidité cadavérique (*rigor mortis*)
- la phase *post-rigor* dite de résolution de la rigidité cadavérique

- la phase d'autolyse

La contraction *post-mortem* et la chute de pH reste modérées chez les poissons. Le pH s'abaisse généralement de 7 à 6,5-6,0 dans le cas de poissons maigres et à 6,0-5,6 dans le muscle brun de poissons gras. Cet abaissement de pH du muscle est généralement insuffisant pour inhiber ou ralentir le développement microbien. En plus d'une activité protéolytique susceptible d'amollir rapidement les tissus, des enzymes telles que les lipases et les phospholipases restent remarquablement actives au froid et dégradent les lipides. Les modifications *post-mortem* des muscles de poisson gras qui se traduisent par une baisse de solubilité des protéines, une fragilisation des cellules, et la libération d'acides gras est plus rapide que celle des poissons blancs. Afin de limiter ces dégradations il est nécessaire de réfrigérer immédiatement les poissons après capture et de les transformer rapidement.

IV-3- Mauvaise capacité de gélification des protéines

Les protéines des tissus musculaires sont réparties en trois groupes : les protéines sarcoplasmiques solubles dans des solutions salines de faible concentration, les protéines myofibrillaires (myosine, actine, tropomyosine, troponine) solubles dans des solutions salines de concentration supérieure à 0.3 M, et les protéines du stroma (collagène, élastine...) insolubles dans les solutions précédentes. Les protéines sarcoplasmiques sont présentes dans le plasma cellulaire où elles agissent en tant qu'enzymes et transporteurs d'oxygène. Elles représentent 18 à 20 % (p/p) des protéines totales du muscle. Les protéines myofibrillaires sont les protéines majoritaires du muscle, elles représentent 65 à 80 % des protéines musculaires totales. Ces protéines constituent les fibres musculaires. Les protéines du stroma représentent 3 à 5 % des protéines musculaires totales. Ce sont les protéines interstitielles des tissus entourant les fibres musculaires, elles sont également impliquée dans la structure de la peau.

Le gel de surimi est un réseau tridimensionnel de protéines myofibrillaires, principalement l'actine et la myosine. Les protéines myofibrillaires de poisson possèdent un très bon pouvoir gélifiant. Pour former le gel, les protéines myofibrillaires sont solubilisées par une forte concentration en sel (NaCl) puis elles sont dénaturées sous l'effet de la chaleur favorisant ainsi les interactions et les agrégations. Le processus de gélification est très dépendant de la température et du pH. La formation d'un pré-réseau gélifié peut se produire à faible température : en 24 heures à 0°C, en 1-2 heures à 20°C, en 30 min à 40°C. Ce sont les

chaînes lourdes de myosine qui semblent s'agréger préférentiellement au cours de cette pré gélification. Après un chauffage à 60-70°C, le réseau gélifié est nettement affaibli. Un chauffage ultérieur à 90-100°C renforce très nettement la fermeté du réseau gélifié suite à l'augmentation des interactions hydrophobes.

Le muscle rouge, présent en forte proportion au sein des petits pélagiques gras, possède une mauvaise capacité de gélification. Celle-ci est défavorable à l'utilisation de ces espèces pour la fabrication du surimi. Cette mauvaise capacité à gélifier résulte de plusieurs facteurs : le pH, la forte teneur en protéines sarcoplasmiques et la présence de protéases thermorésistantes.

IV-3-1- Le pH *post-mortem*

Le pH *post-mortem* des poissons gras décroît rapidement et atteint généralement des valeurs inférieures à 6. Cette diminution résulte de la production d'acide lactique dans les muscles de poisson gras résultant de la dégradation des réserves de glycogène présentes au moment de la mort. Or les pH inférieurs à 6 sont défavorables à la gélification des protéines myofibrillaires car ils accélèrent leur dénaturation (Shimizu et coll., 1992). En effet, lorsque le pH de la chair est proche du point isoélectrique des protéines myofibrillaires, celles-ci sont instables et leur capacité de gélification est réduite. Cette capacité à gélifier augmente pour des pH supérieurs au pH isoélectrique. Ainsi, la neutralisation du pH musculaire est nécessaire pour conserver les propriétés de gélification des protéines myofibrillaires des petits pélagiques.

IV-3-2- Forte teneur en protéines sarcoplasmiques

Le muscle brun présente un fort taux de protéines sarcoplasmiques. Ces protéines ne forment pas de gel après chauffage et interféreraient sur la gélification des protéines myofibrillaires en se liant à celles-ci. (Shimizu et coll, 1992). Les fractions de protéines sarcoplasmiques de poissons gras présentent une plus forte proportion de molécules de haut poids moléculaire par rapport au poisson blanc, or ces molécules sont plus difficilement éliminées au cours des lavages. Dans le cas de la sardine et du maquereau, seulement 40 % des protéines sont extraites à une force ionique de 0 alors que ces protéines

sont extraites à presque 100 % dans le cas du colin d'Alaska (Shimizu et al., 1992). Cependant, d'autres travaux ont montré que la présence de protéines sarcoplasmiques n'aurait pas d'effet sur la capacité de gélification des protéines myofibrillaires (Hultin & Kelleher, 2000). La qualité du gel dépendrait de l'affaiblissement des fortes interactions entre l'actine et la myosine au cours des lavages (Nishioka et coll., 1990). En effet, la myosine joue un rôle clef dans la formation du gel car elle possède une forte capacité à fixer l'eau. Les lavages de la chair permettraient d'améliorer la qualité de la fraction myofibrillaire plutôt qu'éliminer les protéines sarcoplasmiques (Spencer & Tung, 1994).

IV-3-3- Protéases thermorésistantes

La présence de protéases thermorésistantes dans le muscle est un autre facteur défavorable à la gélification. Le muscle brun présente une activité protéasique supérieure à celle du muscle blanc (Hultin & Kelleher, 2000). Cette activité protéasique aboutit à des altérations de la texture du surimi car les protéines myofibrillaires et particulièrement la myosine sont alors dégradées au cours du processus de gélification (Haejung et coll. 1996). Ces protéases, présentes au sein du muscle de poisson, sont divisées en deux groupes : les cathepsines et les protéases alcalines résistantes à la chaleur, leur répartition varie en fonction des espèces (Haejung et coll. 1996).

IV-4- Forte proportion de lipides

Les poissons gras contiennent une forte proportion de lipides qu'il est difficile d'éliminer totalement au cours des procédés. Contrairement aux poissons blancs qui stockent leur matière grasse essentiellement dans le foie, les poissons gras concentrent les lipides dans le muscle, la partie sous-cutanée, et la cavité abdominale. Ainsi, peu de lipides sont retrouvés dans le foie des poissons gras. Dans les muscles, une partie des lipides est sous forme de globules gras extracellulaires. Ils forment également des amas sous la peau et dans la cavité abdominale (Corraze & Kaushik, 1999). La teneur en lipides est plus élevée dans le muscle rouge que dans le muscle blanc. La teneur en lipides du muscle rouge du maquereau (*Scomber australasicus*) atteint 19,6 g de lipides pour 100 g de muscle, pour 3,9 g de lipides pour 100 g de muscle blanc (Body & Vlieg, 1989). La proportion de triglycérides dans les lipides totaux

Tableau III Composition lipidique du muscle brun et du muscle blanc des filets de maquereaux bleus (*Scomber australasicus*). D'après Body & Neg (199)

	Proportions (g /10g lipides totaux)	
	Muscle brun	Muscle blanc
Esters de cholestérol	0	0
Triglycérides	0	70
Acides gras libres	26	18
Cholestérol	26	24
Cardiolipides	0	10
Phosphatidyléthanolamine	19	0
Phosphatidylcholine	0	113
Sphingomyéline	15	25

est plus élevée au sein du muscle brun que dans le muscle blanc, 84 g/100 g lipides totaux contre 76 g/100 g lipides totaux (Tableau III). Les teneurs en EPA et DHA au sein du muscle brun de maquereau, respectivement 1,9 et 2,5 g/100 g muscle sont plus élevées qu'au sein du muscle blanc, respectivement 0,2 et 0,5 g/100 g muscle. Ces lipides sont caractérisés par un fort taux d'acides gras polyinsaturés (AGPI) notamment les acides gras de la série n-3 (Ackman, 1980). Ces lipides sont très sensibles aux réactions d'oxydation qui produisent des composés contribuant à la dégradation des propriétés sensorielles du produit (Jacobsen, 1999). De plus, des interactions entre les composés issus de la dégradation des lipides et les protéines peuvent influencer la qualité sensorielle du produit au niveau de l'odeur, du goût, de la couleur et de la texture (Aubourg, 1999).

IV-5- Présence de substances pro-oxydantes

Le poisson gras est non seulement riche en lipides sensibles à l'oxydation mais en plus il contient des substances pro-oxydantes en quantités importantes. Ces substances pro-oxydantes sont des métaux de transition, les protéines héminiques et des enzymes (lipoxygénases, cyclo-oxygénases). Elles sont présentes au niveau musculaire et induisent l'oxydation des lipides (Decker et Xu, 1998). Le fer, présent en grande partie au sein de l'hémoglobine et de la myoglobine, joue un rôle clef dans l'oxydation lipidique (Hultin et coll., 1991; Richard et coll., 1998). Les sels comme le NaCl, les enzymes et les facteurs environnementaux tels que la température et le pH interviennent dans l'initiation et le déroulement des cinétiques d'oxydation des lipides (Hultin, 1992). Les poissons gras sont ainsi prédisposés à l'oxydation des lipides et donc à la dégradation de leur chair post-mortem.

IV-6- Cas particulier de la transformation des poissons gras

Certains composants sont présents en plus grande quantité dans les muscles de poissons gras qu'au sein des muscles de poissons blancs. Les principaux facteurs qui rendent difficile la fabrication de surimi, à partir des méthodes traditionnelles, sont essentiellement les fortes proportions de muscle brun et de lipides, les concentrations élevées en substances pro-oxydantes, les variations des caractéristiques biochimiques des poissons en fonction de leur lieu de capture, de leur taille et des saisons (Spencer & Tung, 1994 ; Hultin, 2000). La teneur

élevée en lipides et en pigments héminiques du muscle brun, présents en forte proportion au sein des petits pélagiques, a un impact particulièrement néfaste sur la flaveur et la couleur du surimi, or la couleur est un critère de qualité important (Hall & Ahmad, 1992).

Les opérations unitaires des procédés de transformation des poissons gras sont similaires à celles utilisées pour les poissons maigres. Cependant du fait des propriétés particulières des petits pélagiques des adaptations du procédé sont proposées afin d'améliorer la qualité du surimi. Par ailleurs, les rendements résultant de la transformation sont inférieurs à ceux des poissons blancs. Pour un poisson blanc tel que le colin du Pacifique, celui-ci s'élève à 22-24 % (p/p) tandis que pour des poissons gras comme l'anchois d'Atlantique ou le maquereau d'Atlantique, les rendements sont deux fois plus faibles avec respectivement 10-12 % (p/p) et 12-15 % (p/p) (Spencer & Tung, 1994).

IV-6-1- Filetage et obtention de la chair

L'utilisation de poissons frais permet d'obtenir du surimi de meilleure qualité en limitant la présence de sang et de résidus intestinaux et en ralentissant l'autolyse des protéines. La qualité du surimi de petits pélagiques peut être améliorée par élimination du muscle brun des filets, seul le muscle blanc étant alors transformé (Spencer & Tung, 1994). Comparé au surimi de maquereau fabriqué après élimination du muscle brun, le surimi préparé avec des filets entiers est plus foncé, présente une odeur de rance plus marquée et une texture de qualité inférieure (Kelleher et coll., 1994). La partie sous cutanée du filet, riche en muscle rouge, en lipides et en pigments héminiques, est en effet plus sensible aux réactions d'oxydation que le muscle blanc (Undeland et coll., 1999).

Afin d'éliminer le muscle rouge plusieurs techniques sont disponibles (Shimizu et coll., 1992). Dans le cas de l'utilisation d'un séparateur à ruban, le réglage de la pression du ruban et l'orientation du filet sont importants. La face chair du filet doit être systématiquement orientée vers le tamis afin de ne laisser passer que le muscle blanc et éviter la contamination de la chair par les pigments de mélanine de la peau. Une autre technique consiste à congeler le filet sur un tambour rotatif et à découper la peau et le muscle brun avec un couteau. Enfin, la peau et le muscle brun des filets peuvent être retirés par un jet d'eau sous pression (2000 kPa). Cette opération permet d'augmenter la qualité du surimi, mais les rendements sont diminués (Spencer & Tung, 1994).

IV-6-2- Lavages

Les procédés de lavage des poissons gras sont similaires à ceux utilisés pour les poissons maigres, les adaptations du procédé portent sur le nombre de lavage, la proportion d'eau et l'utilisation de solutions salines. Il s'agit d'éliminer au maximum les composés contribuant à altérer l'odeur et la couleur (lipides, pigments) du produit fini tout en préservant l'aptitude des protéines à former un gel.

Afin d'éliminer les lipides présents en forte proportion, plusieurs cycles de lavage/essorage sont réalisés. L'élimination des lipides dépend de plusieurs facteurs notamment de la pression du tambour utilisé dans le séparateur d'arêtes, du rapport volume de solution de lavage/kg de pulpe, de la durée de lavage, du type d'agitation et de l'étape de raffinage. Un bac de décantation peut être ajouté à la chaîne de fabrication pour favoriser l'élimination des lipides par écrémage. La chair peut également être lessivée sous vide (5 mg Hg pendant 20 minutes) afin d'éliminer les lipides et une partie des composés volatils. Les lavages successifs de la chair permettent également d'éliminer une forte proportion des pigments responsables de la couleur ou de composés prooxydants tels que les cytochromes. Ainsi, une forte proportion de l'hémoglobine et de la myoglobine sont éliminés à cette étape. Cependant, des structures cellulaires comme les mitochondries qui contiennent des cytochromes ne sont pas éliminées au cours des lavages (Toyoda et coll., 1992).

Afin d'améliorer la couleur trop foncée du surimi de poisson gras, des traitements à l'ozone ont été proposés (Chen et coll., 1997 ; Jiang et coll., 1998). L'ozone détruit la structure du noyau porphyrine des pigments hémiques et permet la décoloration. Ainsi, un traitement à l'ozone pendant 30 minutes de la chair de maquereau dispersée dans un tampon citrate (pH=3) permet d'en améliorer la blancheur en diminuant les concentrations en myoglobine et autres pigments (Jiang et coll., 1998). Cependant, ce traitement doit être rapide car l'ozone est un oxydant très fort qui peut induire des réactions d'oxydation des lipides et des protéines et réduire leur capacité à gélifier. Afin de limiter ces réactions d'agrégation des protéines, et notamment la formation de ponts disulfure induite par l'ozonation, Jiang et coll. (1998) ont proposé de laver la chair, après traitement à l'ozone, par une solution contenant des agents réducteurs (NaHSO₃ 0,15 %, cystéine 0,15 %, acide ascorbique 0,20 %).

Pour préserver l'aptitude des protéines myofibrillaires à former un gel, il est possible d'adapter la concentration en sels des eaux de lavage. Ainsi, l'utilisation de solutions salines réfrigérées au cours des lavages de la chair de poisson gras permet d'augmenter la capacité de gélification des protéines. Le lavage de la chair de chinchard dans une solution de NaHCO₃

(pH=8) suivi de deux lavages à l'eau avec une addition de NaCl (concentration finale 0,25 %) lors du dernier lavage permet d'augmenter la capacité de gélification des protéines (Chen et coll., 1997). La solution saline permet d'augmenter le pH musculaire induisant une réduction de la dénaturation des protéines et une meilleure solubilisation des protéines sarcoplasmiques. Le contrôle du pH au cours des lavages est un critère important dans la mesure où il permet de maintenir l'hémoglobine sous sa forme inactive. En effet, un pH inférieur à 6, couramment rencontré au cours de la phase *post mortem* des petits pélagiques, favorise la forme active de l'hémoglobine qui catalyse l'oxydation des lipides.

IV-6-3- Addition d'antioxydants

Les étapes de lavage permettent d'éliminer des lipides et des substances pro-oxydantes. Cependant, les molécules anti-oxydantes naturellement présentes sont également perdues. Afin de compenser ces pertes, des antioxydants peuvent être incorporés le plus tôt possible dans la chaîne de transformation et si possible à toutes les étapes du procédé (Kelleher, 1992). Le filetage est généralement réalisé en présence d'air et non pas sous courant d'eau, or la concentration en oxygène de l'eau est près de trente fois inférieure à celle de l'air. Le broyage du muscle favorise la diffusion de l'oxygène dans la chair et la perte des conditions anaérobies induit la production d' O_2° et d' H_2O_2 par la xanthine oxydase (Gutteridge & Halliwell, 1990). D'après Richards et coll. (1998), l'approche la plus efficace serait de rincer les filets avec l'eau immédiatement après filetage suivi d'un trempage dans une solution d'antioxydants. Ainsi, le lavage préserve la qualité des filets de maquereau pendant deux fois plus longtemps que celle d'un filet non traité (Richards et coll., 1998).

La difficulté de l'addition d'antioxydants au cours des lavages est de leur faire atteindre leur site d'action spécifique, c'est à dire la phase lipidique. De plus, une grande partie des antioxydants ajoutés lors des différentes étapes du procédé sont éliminés avec les eaux de lavage. Malgré ces difficultés, l'addition d'acide ascorbique limite l'oxydation des lipides au cours du procédé de transformation et de la conservation à l'état congelé du surimi (Ekstrand et coll., 1993). Kelleher et coll. (1992) ont proposé d'incorporer à la chair de maquereau, un mélange d'antioxydants constitué d'ascorbate de sodium, de TBHQ, et d'un agent chélateur afin de désactiver le fer héminique, catalyseur de l'oxydation des lipides sous ses formes ferryl (Fe^{3+}) et perferryl (Fe^{4+}), et le fer libre actif sous forme Fe^{2+} . L'ascorbate est utilisé pour maintenir l'hème dans son état réduit et un agent chélateur tel que le STPP

(tripolyphosphate-penta sodium) complexe le fer libre. Le TBHQ permet de bloquer les radicaux libres. Un tel système devrait permettre d'inhiber à la fois les réactions d'initiation et de propagation de l'oxydation des lipides. Cependant certains antioxydants tels que l'EDTA ne sont pas autorisés pour un usage alimentaire. Les principaux antioxydants disponibles pour un usage alimentaire sont essentiellement l'acide ascorbique et ses dérivés, l'erythorbate, ainsi que des mélanges de tocophérols. Ainsi, comme proposé par Kelleher et coll. (1992) il semblerait judicieux d'utiliser des mélanges d'antioxydants constitués d'acide ascorbique et de tocophérols, intervenant à différents niveaux de la chaîne d'oxydation des lipides et dans lesquels l'acide ascorbique peut jouer le rôle de régénérateur du tocophérol oxydé.

Tableau IV Distinction de différentes espèces de poissons en fonction de leur teneur en lipides dans les muscles (en g de lipides pour 100g de muscle). D'après Ackman, (1994).

Poissons maigres (< 2%)	Poissons à taux intermédiaires (4-8 %)	Poissons gras (> 8 %)
Cabillaud Lieu noir Merlan	Limande Turbot Sole	Sardine Maquereau Saumon

CHAPITRE 2: LES ALTERATIONS DES LIPIDES DE POISSON

Les lipides de poisson se distinguent des lipides d'autres animaux ou de végétaux par leur forte teneur en acides gras polyinsaturés (AGPI) de la série des $\omega 3$, notamment les acides eicosapentaénoïque (EPA) et docosahexaénoïque (DHA). Ces acides gras possèdent des propriétés nutritionnelles recherchées et sont impliqués dans la prévention des maladies cardiovasculaires, cancéreuses et inflammatoires (Rose & Connolly, 1999 ; Kamal-Eldin & Yanishlieva, 2002). Cependant, les acides gras polyinsaturés sont très sensibles aux réactions d'oxydation. L'hydrolyse et l'oxydation sont les principales voies d'altérations des lipides au cours de la conservation et de la transformation des poissons. Ces modifications affectent la qualité physico-chimique et sensorielle du poisson.

I- LES LIPIDES DE POISSON

I-1- Sites des dépôts lipidiques

Chez le poisson, il existe plusieurs sites de dépôts lipidiques dont les principaux sont le foie, le muscle, le tissu adipeux périvercélal et le tissu adipeux sous cutané (Scheridan, 1988). La répartition entre les différents sites de dépôt varie selon les espèces. Cette différence dans les sites de stockage et dans les teneurs en lipides représente un critère pratique de distinction des poissons (tableau IV).

Les poissons maigres stockent la matière grasse dans le foie qui atteint des taux de 40 à 70 g de lipides pour 100 g de tissu; les muscles de ces poissons sont pauvres en lipides (5 g pour 100 g de chair). Les poissons gras stockent une forte quantité des lipides au niveau musculaire. En effet, la part de lipides présente dans les muscles, plus de 10% des lipides totaux, est supérieure à celle trouvée dans le foie. Les graisses sont sous forme de globules gras extracellulaires dans les muscles et forment des couches sous la peau et dans la cavité abdominale (Corraze et Kaushik, 1999). Les poissons à teneur en lipides intermédiaire sont généralement des poissons plats qui accumulent leurs graisses dans le foie mais aussi dans

leurs muscles et dans d'autres tissus tels que le tissu adipeux périviscéral. Chez les poissons gras, la teneur en lipides la plus élevée se situe vers la tête et diminue vers la queue, alors que chez le poisson maigre la teneur en lipide la plus importante est trouvée au niveau de la queue.

La teneur en lipides des muscles dépend de la nature du muscle considéré. Pour les poissons maigres, les muscles rouges contiennent environ deux fois plus de lipides que les muscles blancs. Pour les poissons gras comme le maquereau (*Scomber australicicus*), la teneur en lipides du muscle rouge atteint 19,6 g de lipide pour 100 g de muscle et celle du muscle blanc est de 3,9 g pour 100 g de muscle (Body & Vlieg, 1989).

La peau peut contenir de fortes quantités de graisses selon les espèces, jusqu'à 50 g de lipides pour 100 g de peau chez le maquereau. Les poissons gras, selon la saison, peuvent également présenter une importante couche de graisse sous-cutanée. La partie ventrale entourant la cavité viscérale et les tissus abdominaux sont généralement riches en lipides.

I-2- Nature des lipides

La teneur et la composition lipidique des poissons varient avec l'âge, le cycle sexuel, et les facteurs environnementaux tels que la température et la salinité de l'eau (Corraze et Kaushik, 1999).

Les lipides des muscles des poissons maigres contiennent des triglycérides (35% des lipides totaux) et une forte proportion de phospholipides (65%) intimement associés aux protéines car constitutifs des membranes cellulaires.

Dans le groupe des poissons gras, la teneur en lipides des muscles varie de 1 à 25 g pour 100 g de muscle. Les lipides sont surtout constitués de lipides neutres, essentiellement des triglycérides. Les diglycérides et monoglycérides étant essentiellement issus de l'hydrolyse des triglycérides au sein du muscle sont présents en très faibles quantités. Les triglycérides sont de type mixte. Les divers acides gras sont répartis d'une manière très hétérogène conduisant ainsi à une grande variété d'espèces moléculaires de triglycérides. Cependant, la répartition entre la position 2 et les positions 1 et 3 est régie par la longueur des chaînes et l'insaturation : les acides gras les plus insaturés ou à plus courte chaîne occupent préférentiellement la position 2.

Les lipides polaires, essentiellement des phospholipides, représentent de 10 à 20 g/100 g de lipides totaux. Ils jouent un rôle structural et fonctionnel dans les membranes cellulaire. Ils

Tableau V Composition en acides gras (g/100 g acides gras totaux) des lipides de chinchards (*Trachurus trachurus*) capturés en novembre 1997 (Bandarra et coll., 2001) et de sardines (*Sardina pilchardus*) capturées en novembre 1994 (Bandarra et coll., 1997).

Acides Gras	Chinchard (<i>Trachurus trachurus</i>)	Sardine (<i>Sardina pilchardus</i>)
14 :0	3,44	5,16
16 :0	18,59	17,02
18 :0	5,42	3,60
Autres	/	1,47
Σ Saturés	29,56	27,25
16 :1	5,43	7,04
18 :1	18,04	11,86
20 :1	1,85	2,22
22 :1	2,24	0,86
24 :1	0,67	0,53
Autres	/	0,20
Σ Monoinsaturés	28,58	22,71
18 :2 ω 6	1,17	0,93
20 :4 ω 6	1,02	0,65
20 :4 ω 3	0,72	1,53
20 :5 ω 3	9,74	17,58
22 :5 ω 3	2,20	1,91
22:6 ω 3	16,19	12,08
Autres	/	8,49
Σ Polyinsaturés	35,70	43,17
Teneur en lipides (g / 100g muscle)	6,8	15,8

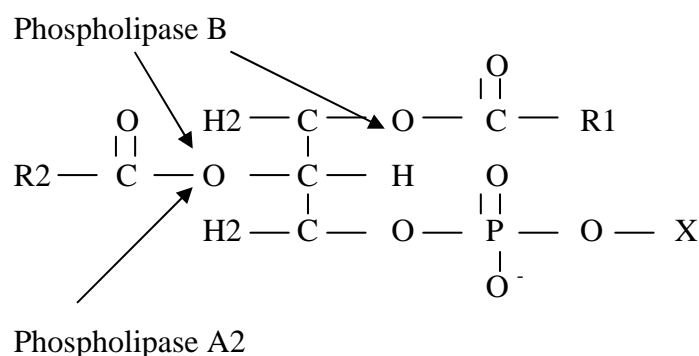


Figure 8 sites d'attaque des phospholipases A2 et B.

sont essentiellement représentés par la phosphatidyléthanolamine (plus de 30 % des phospholipides totaux), et la phosphatidylcholine (plus de 50 % des phospholipides totaux). Ces phospholipides contiennent généralement de fortes proportions d'acides gras polyinsaturés à longue chaîne.

Le stéroïde le plus répandu est le cholestérol, sa teneur varie également en fonction des saisons ; pour le maquereau elle peut varier de 36,5 mg/100 g de chair en août à 61,9 mg/100 g en juin (Krzynowek et coll., 1990).

Les acides gras totaux des lipides de sardine et de chinchard présentent une proportion d'acides gras saturés similaire (Tableau V). En fonction des saisons, ils représentent 25 à 30 % des acides gras totaux chez la sardine et le chinchard, l'acide palmitique C16 :0 est majoritaire et représente 15 à 20 % des acides gras totaux. La proportion d'acides gras monoinsaturés est supérieure dans le muscle de chinchard (24 à 31 %) comparé à la sardine (18 à 25 %) (Tableau V). La proportion d'acides gras polyinsaturés varie de 40 à 50 % chez la sardine et de 34 à 43 % chez le chinchard. Les acides gras polyinsaturés majoritaires étant l'EPA C20 :5 ω 3 chez la sardine et le DHA C22 :6 ω 3 chez le chinchard (Bandarra et coll., 1997 ; 2001).

II- LA LIPOLYSE

La lipolyse intervient au sein des muscles de poisson pendant la phase *post mortem* et est associée à la dégradation du muscle de poisson au cours de la transformation et de la conservation (Shewfelt, 1981).

L'hydrolyse des lipides est principalement le fait d'enzymes lipolytiques tissulaires. Chez le poisson il s'agit des lipases (EC 3.1.1.3) et de la phospholipase A2 (EC 3.1.1.4) et la phospholipase B (EC 3.1.1.5). Les lipases hydrolysent les liaisons esters des glycérides et libèrent à partir des triglycérides (TG) des acides gras (AGL), des diglycérides (DG) et des monoglycérides (MG). La phospholipase A2 hydrolyse la liaison ester en position 2 du glycérol dans les phospholipides. La phospholipase B attaque la liaison ester en position 1 ou 2 du glycérol (figure 8). La phospholipase A isolée du muscle de lieu noir (*Pollachius virens*) présente une activité optimale à 37-42°C et à pH 8,5-9 (Audley et coll., 1978). Ces activités enzymatiques dépendent du site de dépôt lipidique, elles sont plus importantes dans le muscle rouge que dans le muscle blanc du maquereau (Shewfelt, 1982 ; Hwang & Regenstein, 1993).

Ces enzymes sont très actives entre -4°C et 4°C (Aubourg et coll., 1998) L'hydrolyse des lipides au sein de la chair de maquereau réfrigérée ($2-3^{\circ}\text{C}$) sous vide durant 15 jours conduit à la formation quantitative d'acide gras libres, de 1,2-diglycérides, de lysophosphatidylcholine et lysophosphatidyléthanolamine (Hwang & Regenstein, 1993). Bien que l'activité des phospholipases diminue après 7 jours de stockage sous glace ($2-3^{\circ}\text{C}$) l'activité des lipases continue au-delà de 15 jours (Hwang & Regenstein, 1993 ; Aubourg et coll., 1998).

L'activité lipolytique, bien que faible, persiste lors de la conservation à l'état congelé. Ainsi, des acides gras sont libérés après au moins 300 jours de conservation à -18°C des filets et de la chair de Merlu blanc du Cap (*Merluccius capensis*) (De Koning & Mol, 1990). Plus les températures de conservation sont basses, plus la cinétique de formation des acides gras libres est ralentie. Ainsi cette cinétique est plus rapide au cours de la conservation à -5°C par rapport à une conservation à -18°C . Bien que la cinétique de formation des acides gras libres soit faible à -40°C , l'activité lipolytique continue après 145 et 245 jours de stockage à -40°C de la chair de merlu blanc du Cap (De Koning & Mol, 1990). Ces enzymes sont inactivées par la cuisson (Hwang & Regenstein, 1993).

Les travaux de Han & Liston (1987) réalisés sur des microsomes de muscle de truite arc-en-ciel (*Salmo gairdnerii*) suggèrent l'existence d'une corrélation entre l'oxydation des lipides et l'activité de la phospholipase A2. D'après Aubourg (2001a), les acides gras libres ont un effet pro-oxydant sur les lipides de poisson.

Ces réactions de lipolyse induisent une dégradation de la qualité du produit (Shewfelt, 1982). L'hydrolyse enzymatique des lipides neutres joue un rôle clef dans la détérioration des propriétés sensorielles du saumon au cours de son stockage à l'état congelé (Refsgaard et coll., 2000).

De plus, les acides gras libres provenant de l'activité de ces enzymes interagissent avec les protéines favorisant leur dénaturation et conduisent à l'altération du produit (Dyer & Fraser, 1959).

III- L' OXYDATION DES LIPIDES

La stabilité du muscle vis à vis de l'oxydation dépend de la localisation, de la composition, de la concentration et de la réactivité de trois facteurs : les substrats et les catalyseurs de l'oxydation et les antioxydants (Decker & Xu, 1998). Au niveau des tissus vivants, il existe

des mécanismes naturels de contrôle de l'oxydation afin de prévenir la destruction oxydative des lipides membranaires, des protéines et des acides nucléiques. Ainsi, il existe une régulation des systèmes pro-oxydants et anti-oxydants qui permet de maintenir la balance entre les facteurs impliqués dans les réactions d'oxydation. La régulation des facteurs pro et antioxydants est perturbée à la mort de l'animal et durant le stockage et la transformation des muscles. Ce dérèglement induit des changements des propriétés biochimiques du muscle (Hultin, 1994). Ces modifications sont caractérisées notamment par une augmentation de la teneur en fer libre (Decker & Hultin, 1990), une activation des protéines héminiques (Kanner et coll., 1987), la dégradation des membranes (Huang et coll., 1993). Ces différents facteurs favorisent le développement des réactions d'oxydation qui induisent la dégradation des propriétés biochimiques, organoleptiques et nutritionnelles de l'aliment (Frankel, 1998).

Les facteurs qui influencent l'oxydation des lipides sont nombreux. Il s'agit de facteurs intrinsèques tels que la composition en acides gras des lipides (nombre et position des insaturations), la présence de pro oxydants (hème, ions métalliques, enzymes) ou d'antioxydants naturels (tocophérols, caroténoïdes...) et des facteurs externes tels que la température, la lumière, la pression partielle en oxygène, l'activité de l'eau, les conditions de stockage et de transformation (Hsieh & kinsella, 1989a).

III-1- Mécanismes généraux de l'oxydation des lipides

L'oxydation des lipides peut résulter de plusieurs voies réactionnelles en fonction du milieu et des agents initiateur :

- l'auto-oxydation catalysée par la température, les ions métalliques, les radicaux libres ;
- la photo-oxydation, initiée par la lumière en présence de photosensibilisateurs
- l'oxydation enzymatique initiée par la lipoxygénase.

III-1-1- Auto-oxydation

L'oxydation des lipides est une réaction auto-catalytique. Il s'agit d'un enchaînement de réactions radicalaires se déroulant en trois étapes (Figure 9). Une première réaction produit un radical libre par élimination d'un hydrogène de l'acide gras (initiation).

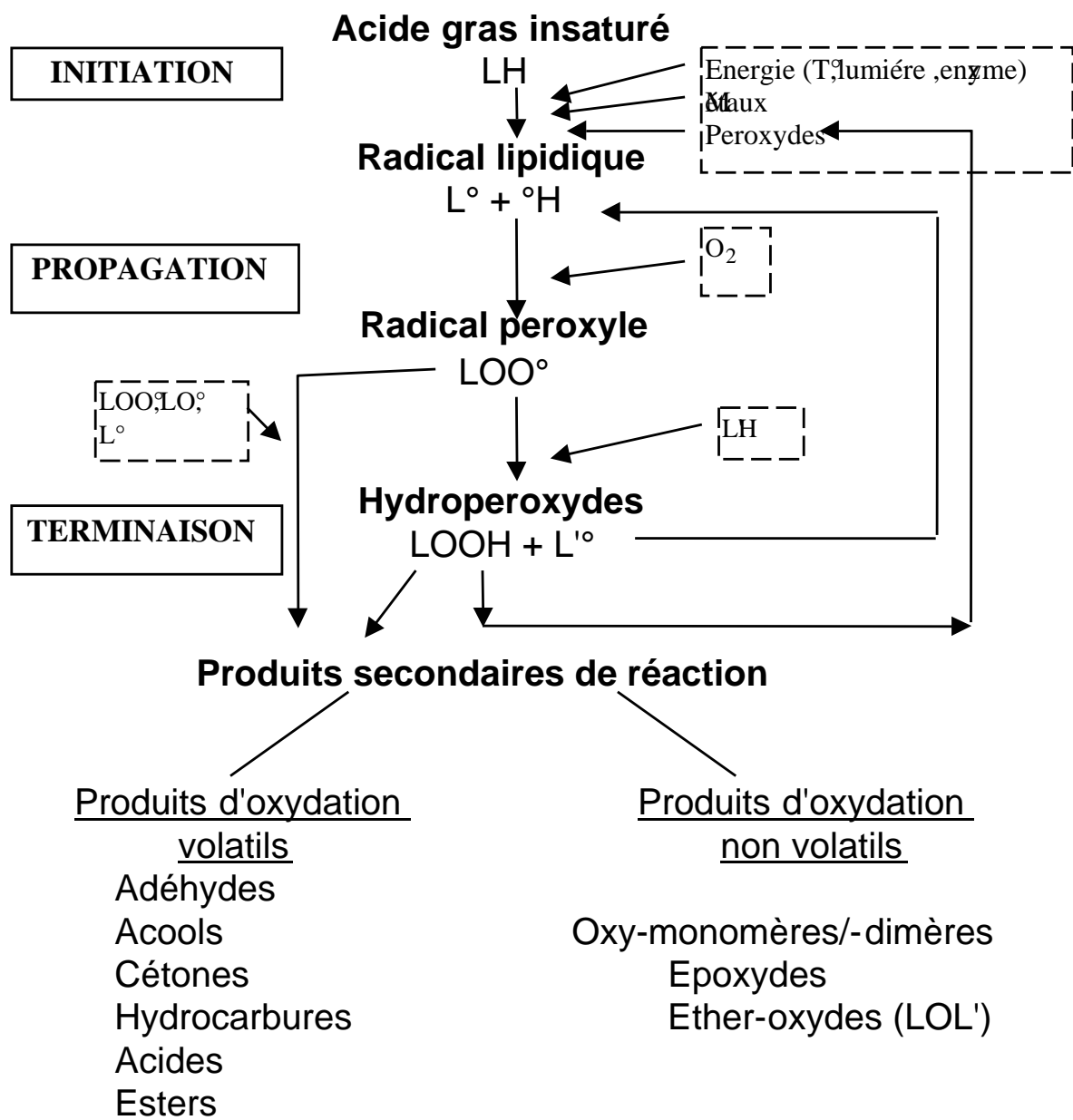


Figure 9 Schéma général de l'oxydation des lipides.

Puis les réactions s'enchaînent pour produire plusieurs radicaux libres (propagation) qui se combinent pour former des composés non radicalaires (terminaison).

Mécanisme réactionnel de l'oxydation des lipides (Bolland & Gee, 1946). :

INITIATION : En présence d'un initiateur (I), les lipides insaturés (RH) perdent un atome d'hydrogène pour former un radical libre de lipide (R°) (radical, lipoyle).

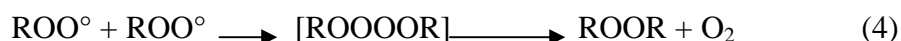


Ce mode d'initiation, favorisé par une élévation de température, peut être produit par des radiations ionisantes, des générateurs chimiques, des systèmes enzymatique ou chimiques produisant des espèces activées de l'oxygène, ou de traces métalliques.

PROPAGATION : Les radicaux libres formés fixent l'oxygène moléculaire et forment des radicaux libres peroxydes instables (2) qui peuvent réagir avec une nouvelle molécule d'acide gras pour former des hydroperoxydes (3).



TERMINAISON : Les radicaux formés réagissent entre eux pour conduire à un produit qui n'est pas un radical libre.



Les hydroperoxydes peuvent également se décomposer par scission homolytique de la liaison O-O pour former un radical alcoyl et un radical hydroxyl. Le radical alcoyl réagit avec d'autres substrats et propage la réaction en chaîne. Il peut également subir une scission carbone-carbone de part et d'autre du radical pour former un radical alkyl et un radical vinyl. Le radical alkyl peut réagir avec un hydrogène, un radical hydroxyl ou une molécule d'oxygène générant ainsi des hydrocarbures, des alcools et d'autres hydroperoxydes. Le radical vinyl peut réagir avec un radical hydroxyl, un radical hydrogène ou l'oxygène moléculaire pour générer des aldéhydes et des hydrocarbures.

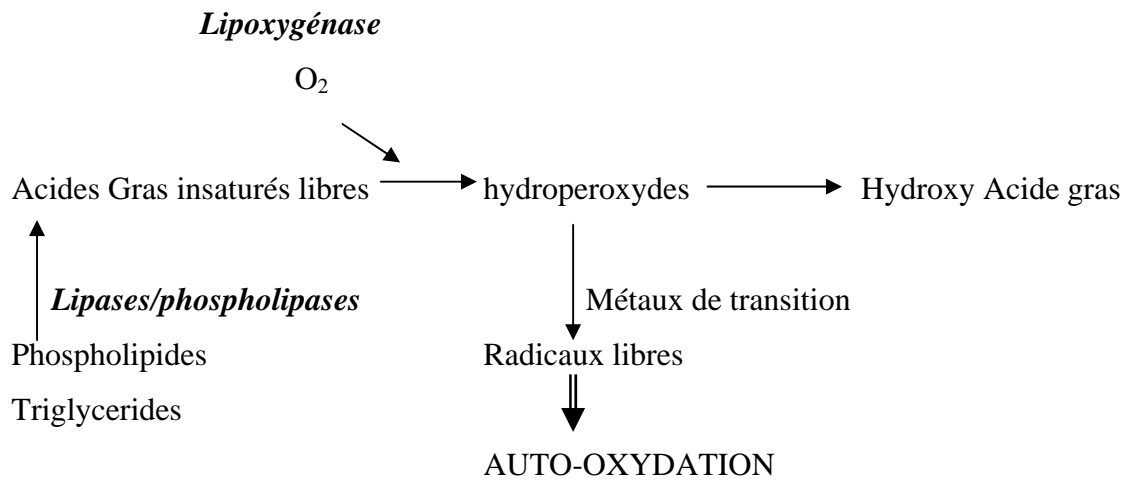


Figure 10 Mécanisme d'initiation de la peroxydation des lipides par l'activité lipoxygénasique (German et Kinsella, 1985)

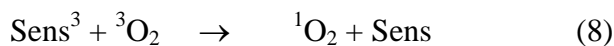
III-1-2- Photo-oxydation

La photo-oxydation est une voie importante de production d'hydroperoxydes en présence d'oxygène, d'énergie lumineuse et de photosensibilisateurs tels que les hémoprotéines ou la riboflavine (Hultin, 1992). Les photosensibilisateurs (Sens) absorbent l'énergie lumineuse et passent à l'état triplet excité (Sens³) (Hultin, 1994). Les photosensibilisateurs interviennent dans l'oxydation des lipides selon deux types de mécanismes (Frankel, 1998).

Les photosensibilisateurs de type I, telle que la riboflavine, agissent comme les radicaux libres initiateurs. Dans leur état triplet, elles arrachent un atome d'hydrogène ou un électron aux molécules lipidiques pour former un radical capable de réagir avec l'oxygène (7).



Selon le second mécanisme, les molécules photosensibles de type II, telles que la chlorophylle et l'érythrosine, réagissent dans leur état excité (Sens³) avec l'oxygène triplet (8) auquel elles transfèrent leur énergie pour donner de l'oxygène singulet (¹O₂).



L'oxygène singulet ainsi formée est très électrophile et peut réagir directement sur un acide gras insaturé (RH) formant ainsi un hydroperoxyde ROOH (9).



Par la suite interviennent les réactions radicalaires en chaîne de l'auto oxydation. Les hydroperoxydes ainsi formés sont différents de ceux formés par autooxydation (Frankel, 1998).

III-1-3- Voie enzymatique

Le phénomène d'oxydation des acides gras insaturés peut être d'origine enzymatique. Les deux enzymes principalement impliquées sont la lipoxygénase et la cyclooxygénase (Hultin, 1994). La lipoxygénase catalyse l'insertion d'une molécule d'oxygène sur un acide gras insaturé selon une réaction stéréospécifique et aboutit à la formation d'hydroperoxydes. Elle agit spécifiquement sur les acides gras non estérifiés. Son activité est donc souvent couplée avec celle des lipases et phospholipases (Figure 10). La cyclooxygénase est une lipoxygénase qui incorpore deux molécules d'oxygène au niveau d'un

acide gras pour former des hydroperoxydes spécifiques. Les cycloxygénases catalysent la formation *in vivo* des prostaglandines et thromboxanes et les lipoxygénases celle des leucotriènes. Les substrats de la lipoxygénase de poisson sont les AGPI comme l'acide arachidonique (C20 :4 ω6), l'EPA (C20 :5 ω3) et le DHA (C22 :6 ω3) (Josephson & Lindsay, 1986).

L'oxydation enzymatique se produit même à basse température. Durant le stockage à l'état congelé l'activité enzymatique est très faible. Cependant, une fois la décongélation amorcée et des températures de 0°C à 4°C atteintes, il semblerait que cette activité reprenne et s'accroisse (Frankel, 1998). Cette activité lipoxygénasique est surtout présente au niveau des branchies et de la peau du poisson (German et Kinsella, 1985). Chez le poisson, les lipoxygénases présentes seraient les 12-lipoxygénase, 15-lipoxygénase et 9-lipoxygénase dont l'activité conduit à la formation des 12-hydroperoxydes, 15-hydroperoxydes et 9-hydroperoxyde. Les activités des 12-lipoxygénase, 15-lipoxygénase, et 9-lipoxygénase ont été mises en évidence au sein de la peau de hareng (*Clupea haerengus*) et de sardine (*Sardina pilchardus*), avec une activité prédominante de la 12-lipoxygénase (Medina et coll., 1999). L'activité de la 12-lipoxygénase est également présente dans les muscles de maquereaux (Saeed & Howell, 2001).

La décomposition de l'acide arachidonique-12-hydroperoxyde issu de l'activité lipoxygénasique des ouies de truite conduit à la formation de 2-nonéanal, 1-octène, 1-octène-3-ol, 2-octène, 2-octène-1-ol. La décomposition de l'acide eicosapentaénoïque-12-hydroperoxyde conduit à la formation du 2,6-nonadiénal, 1,5-octadiène-2-ol et 2,5-octadiène-1-ol (Hsieh & Kinsella, 1989b).

Au cours de la période *post mortem* et de la transformation des poissons, des lipoxygénases seraient libérées par la peau et généreraient des hydroperoxydes de lipides au sein des muscles (Rhee, 1988). Ces hydroperoxydes participeraient à l'initiation et à la propagation de l'oxydation. Cette voie enzymatique de peroxydation nécessite la présence de cofacteurs et un pH situé entre 6 et 7 dans le cas des muscles de poisson (Rhee, 1988).

Les lipoxygénases du poisson sont inactivées à des températures supérieures à 60°C, pour lesquelles l'oxydation non enzymatique est favorisée. Ces enzymes peuvent être inhibées par les tocophérols (vitamine E) qui sont des antioxydants naturels.

III-2- Les initiateurs de l'oxydation des lipides

La phase d'initiation de l'oxydation des lipides peut être déclenchée par plusieurs facteurs : les formes activées de l'oxygène, les enzymes, les métaux ou la chaleur (Hsieh & Kinsella, 1989b, Hultin, 1994 ; Frankel, 1998).

III-2-1- Initiation par les formes activées de l'oxygène

L'oxygène moléculaire est, dans son état fondamental, à l'état triplet. Il ne peut réagir directement avec les lipides car la barrière de spin est trop élevée. La réaction de l'oxygène avec les acides gras insaturés est rendue possible par trois types de mécanismes. Le premier correspond aux voies de l'autoxydation qui résultent du départ d'un hydrogène d'une chaîne d'acide gras sous l'influence de différents initiateurs comme les ions des métaux de transition, et les formes activées de l'oxygène comme le radical hydroxyle. Le radical hydroxyle est très réactif, il peut arracher un hydrogène et former ainsi un radical alkyle qui va initier la peroxydation lipidique. Le second mécanisme est la formation d'oxygène singulet capable de réagir directement avec les chaînes grasses. C'est ce qui se produit généralement lors de la photooxydation. La troisième est liée à l'intervention d'enzymes permettant une fixation directe de l'oxygène moléculaire.

III-2-2- Initiation par les métaux

Les métaux de transition jouent un rôle important dans la génération des radicaux libres de l'oxygène, ils sont les premiers activateurs des molécules d'oxygène. Le niveau élevé de l'oxydation lipidique présent au sein des muscles bruns ne serait pas directement due à la proportion importante de lipides mais dépendrait plutôt de sa forte concentration en fer (Love, 1980). Au sein des tissus biologiques, les principaux métaux de transition présents sont le fer et le cuivre. Ces derniers catalysent l'oxydation des lipides par des voies enzymatiques et non enzymatiques. La voie non enzymatique intervient en présence d'agent réducteur tel que les superoxydes, l'ascorbate et la cystéine (Kanner et coll., 1987). Au niveau des microsomes et du réticulum sarcoplasmique des muscles, la voie d'initiation de l'oxydation des lipides est de nature enzymatique et fait intervenir le fer, l'ADP, le NADH ou le NADPH. (Rhee, 1988). En présence des métaux de transition, les hydroperoxydes produits

par les enzymes, seraient décomposés pour former des composés volatils responsables des mauvaises odeurs. L'initiation de l'oxydation lipidique par les métaux peut se faire par transfert d'électron ou par formation de complexe de transition ou de complexe avec le peroxyde d'hydrogène qui catalysent l'auto-oxydation et la décomposition par la réaction redox (Frankel, 1998).

III-2-3- Facteurs environnementaux

Les principaux facteurs impliqués dans l'oxydation des lipides au cours des procédés de transformation et de conservation des poissons et de leurs produits transformés sont : la température, du pH, de l'activité de l'eau et de la pression partielle en oxygène.

Une élévation de température favorise l'oxydation des lipides. L'oxydation des lipides est d'autant plus rapide que la température est importante : le départ des hydrogènes allyliques et la décomposition des hydroperoxydes en produits secondaires sont favorisés. Il est à noter cependant, que la solubilité de l'oxygène diminue quand la température augmente. Il existe donc un antagonisme entre ces deux paramètres. A basse température, la solubilité de l'oxygène est élevée: la température devient alors le facteur limitant de la peroxydation lipidique. Au contraire, à température élevée, la concentration en oxygène dans le milieu est limitée, elle peut alors devenir un facteur limitant de l'oxydation. Aux températures élevées (de l'ordre de 70°C), il y a dénaturation des protéines, notamment de la myoglobine qui relargue le fer et le rend directement disponible pour initier l'oxydation ou favoriser la décomposition des hydroperoxydes, notamment en présence d'agents réducteurs (Khayat & Schwall, 1983). De plus il se produit une désorganisation des structures cellulaires qui favorisent les contacts entre substrats de l'oxydation et agents prooxydants. Ainsi, les opérations de cuisson sont bien connues pour avoir un effet pro-oxydant marqué. Au contraire, la congélation est un bon moyen pour augmenter la durée de conservation des produits (Genot, 2000), car les vitesses d'oxydations des lipides et des pigments héminiques sont notablement réduites à faibles températures. Lors du stockage à l'état congelé, il est nécessaire d'atteindre des températures de - 40°C pour arrêter complètement l'oxydation car à une température de - 15°C la formation de peroxydes reste possible (Ke et coll. 1977).

Le pH influence le déroulement de l'oxydation par le biais de plusieurs mécanismes (Genot et coll., 2003). Premièrement, pour les réactions d'oxydo-réduction faisant intervenir des protons (H^+) le potentiel redox décroît linéairement avec le pH. Un pH acide favorise

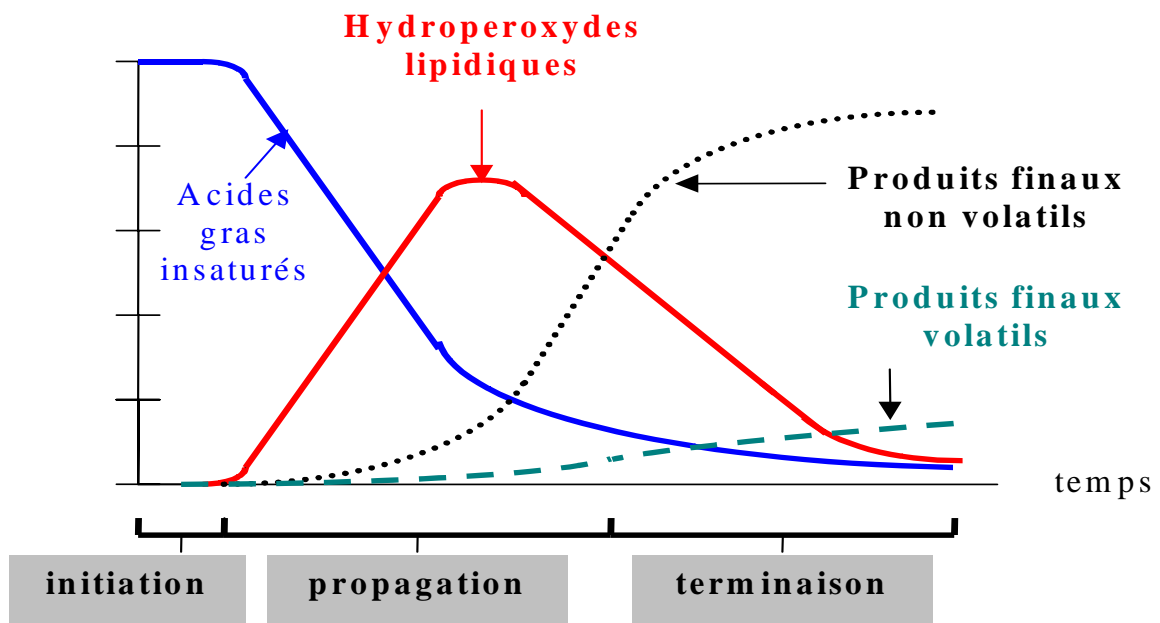


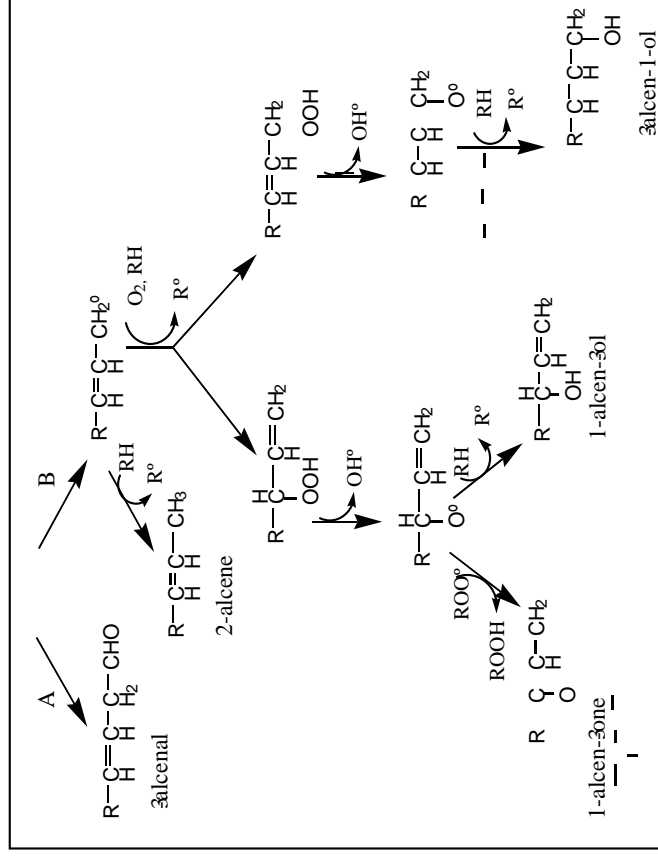
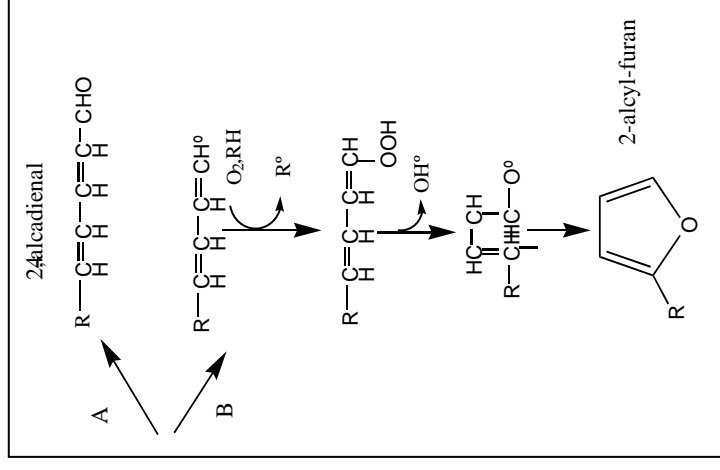
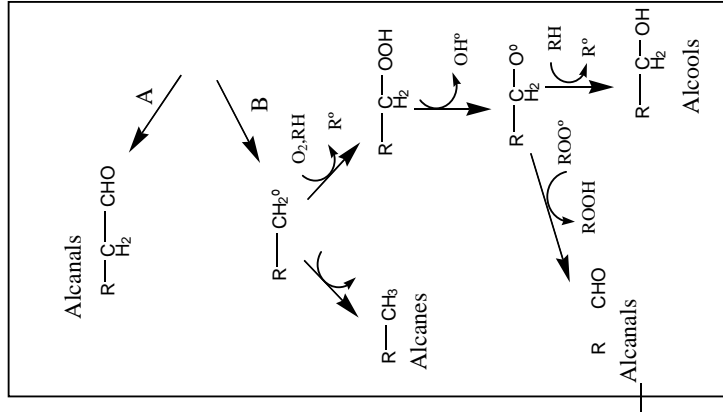
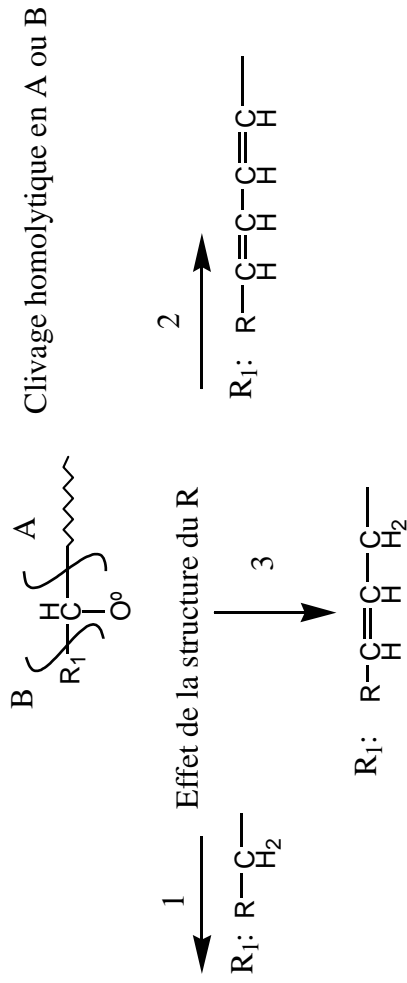
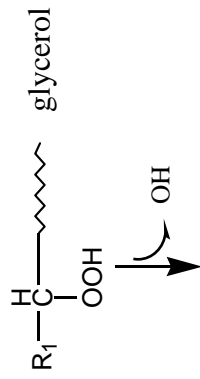
Figure 11 Schématisation de la cinétique d'oxydation des acides gras insaturés (d'après Genot, communication personnelle).

donc la réaction d'oxydation, en particulier quand des espèces pro-oxydantes (ions des métaux de transition) ou antioxydantes (acide ascorbique par exemple) solubles en phase aqueuse sont présentes. Le pH intervient également dans la solubilité des composés impliqués dans l'initiation de la réaction. Ainsi, plus le pH est bas, plus la solubilité et le potentiel redox de ces ions métalliques, et donc leur réactivité vis à vis des molécules oxydables sont élevées. Dans le cas du tissu musculaire, un pH bas favorise la dénaturation des protéines héminiques et la libération du fer qui est un agent prooxydant. Le pH modifie également les interactions entre constituants du fait d'attractions et de répulsions électrostatiques liées à la charge des molécules à un pH donné en fonction de leur pK. Ainsi, les interactions entre cations métalliques et protéines sont favorisées quand le pH est supérieur à leur point isoélectrique, ce qui est susceptible de favoriser l'oxydation si les protéines sont directement en contact avec les lipides.

L'activité de l'eau d'un système influence les réactions d'oxydation des lipides. Par définition, l' a_w est le rapport de la pression partielle de vapeur d'eau d'un produit sur la pression partielle de vapeur d'eau saturante exercée par l'eau pure à la même température. L'effet de l'eau est lié aux propriétés de solvation des ions et des radicaux libres et à son activité chimique. Par solvation, l'eau permet la mobilisation des substances pro-oxydantes ou antioxydantes. Elle interagit avec les cations métalliques et les rend plus ou moins disponibles dans la catalyse des réactions d'oxydation. En général, en présence de métaux de transition solubles, une a_w voisine de 0,3 (comprise entre 0,2 et 0,4) correspond aux vitesses d'autoxydation les plus faibles. Ces valeurs correspondent à la formation d'une couche monomoléculaire d'eau autour des constituants. Une a_w comprise entre 0,6 et 0,8 correspond aux vitesses d'oxydation les plus grandes. Une très faible activité de l'eau est également favorable à l'oxydation (Frankel, 1998). Par contre, les réactions initiées par des activités enzymatiques sont généralement fortement ralenties quand l'activité de l'eau est inférieure à 0,7-0,8.

La concentration d'oxygène (pression partielle en oxygène) dans l'espace environnant le produit et dans le produit lui-même influence la vitesse d'oxydation. Elle intervient également au niveau de la nature des produits secondaires formés par décomposition des hydroperoxydes. Son incidence est donc à la fois sur la durée de conservation du produit et la nature des odeurs perçues quand le produit est oxydé. La relation entre vitesse d'oxydation et pression partielle en oxygène dépend de facteurs comme l'activité de l'eau, la température, la nature des catalyseurs. Selon les équations théoriques, quand la concentration en oxygène est

Figure 12 Mécanismes de décomposition des monohydroperoxydes des TAG (Genot et coll., 2000)



suffisamment élevée, la vitesse d'oxydation est indépendante de cette concentration. Inversement, quand la concentration d'oxygène est suffisamment faible, la vitesse d'oxydation est indépendante de la concentration en substrat et directement proportionnelle à la concentration d'oxygène. Pour les concentrations intermédiaires, la vitesse d'oxydation dépend à la fois des concentrations en oxygène et en substrat.

III-3- Produits formés au cours de l'oxydation des lipides

L'oxydation des lipides de poisson conduit à la formation de produits primaires : hydroperoxydes, radicaux libres, diènes conjugués, très instables et rapidement décomposés en produits secondaires : aldéhydes, alcools, cétones. Ainsi, lors du développement des réactions d'oxydation vont successivement apparaître les produits primaires et secondaires de l'oxydation (Figure 11).

III-3-1- Produits primaires

Des radicaux libres sont formés au cours des phases d'initiation et de propagation de la réaction d'oxydation des lipides. Ces espèces très instables et très réactives sont des composés cytotoxiques susceptibles d'induire des altérations des molécules d'ADN (Kanazawa et coll., 2000) et des protéines. Les diènes conjugués, se forment par réarrangement des doubles liaisons du radical lipoylé des acides gras polyinsaturés. Les hydroperoxydes sont des produits intermédiaires de l'oxydation des lipides sans odeur spécifique, ils se décomposent rapidement (Figures 9 & 12). Ce sont les précurseurs des composés volatils.

III-3-2- Produits secondaires

La scission des produits primaires de l'oxydation conduit à la formation de composés secondaires souvent volatils (Figures 9 & 12). Ces composés sont responsables des odeurs propres aux poissons. Les poissons frais sont caractérisés par une odeur d'herbe coupée, caractéristiques des composés carbonylés et des alcools issus de la dégradation des AGPI probablement par voie enzymatique (Josephson, 1984).

Tableau VI Groupements réactifs des produits d'oxydation des lipides et des protéines intervenant dans les réactions d'interaction lipides-protéines. D'après Pokorny (1977).

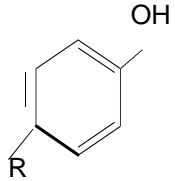
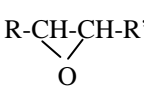
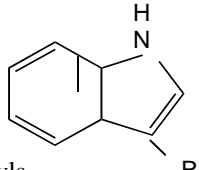
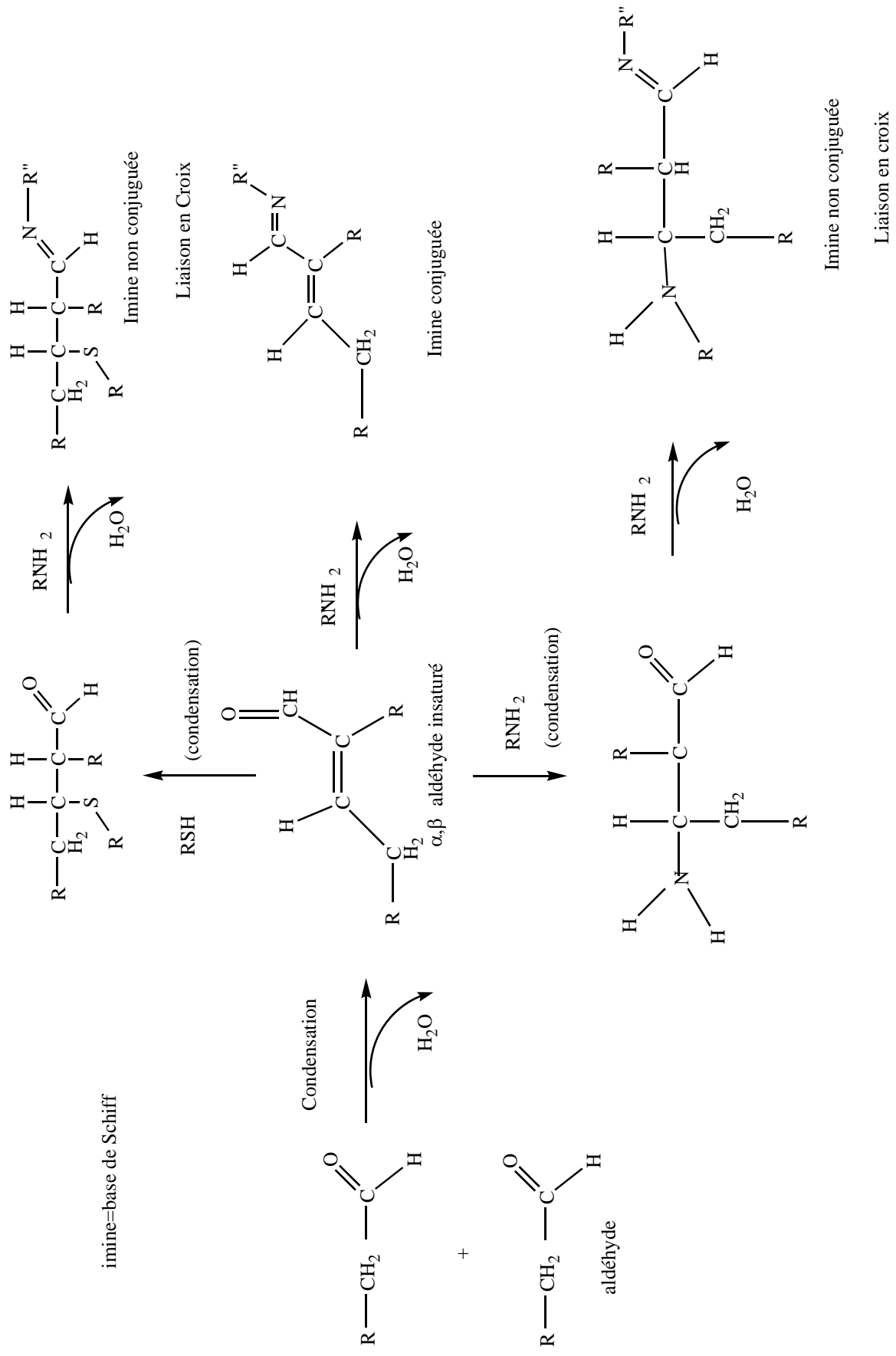
Nature de la liaison formée	Groupements réactifs des produits d'oxydation des lipides	Groupements réactifs des protéines	
Liaisons covalentes	Hydroperoxydes R-OOH	Amines primaires R-NH ₂	
	Aldehyde saturé R-CH ₂ -CHO	Amines secondaires R-NH-R'	
	Aldehyde insaturé R-(CH=CH) _n -CHO	Thiols R-SH	
	Cétones R-CH=CH-CO-R'	Sulfures R-S-R'	
	Cétols R-CHOH-CO-R'	Disulfures R-S-S-R'	
	Bicétone R-CO-CO-R'	Phénols 	
	Epoxydes 	Indoles 	
	Liaisons hydrogène	Hydroxyls R-CH=CH-CHOH-R'	Hydroxyls R-OH
		Dihydroxyls R-CHOH-CHOH-R'	Liaison peptidique R-CO-NH-R'
		Carboxylique R-COOH	Carboxylique R-COOH

Figure 13 Mécanismes impliqués dans les interactions entre les protéines et les aldéhydes (D'après Genot et coll., 2003).



Une grande variété de composés carbonylés (aldéhydes, cétones, alcools) caractérise les odeurs des lipides oxydés des poissons. Il s'agit notamment de l'hexanal caractéristique de la note « herbe coupée », du 1-octen-3-ol note « champignon », du 1,5-octadien-3-one note « champignon ».

III-3-3- Produits d'interaction entre les produits d'altération des lipides et les protéines

Les hydroperoxydes et les produits secondaires issus de l'oxydation des lipides interagissent avec les protéines et les acides aminés (tableau VI). Ces interactions ont un impact important sur la dégradation des propriétés fonctionnelles, sensorielles et nutritionnelles des aliments (Pokorny, 1977). La nature de ces interactions dépend du stade de l'oxydation des lipides c'est à dire de la teneur en hydroperoxydes ou en produits secondaires (Ladikos & Lougovois, 1990).

Les hydroperoxydes sont très réactifs avec les groupements aminés et sulphydryles des protéines. La réaction d'un hydroperoxyde avec un groupe α -aminé conduit à la formation d'un aldéhyde tandis que la réaction d'un hydroperoxyde avec un groupe ϵ -aminé libre d'une lysine conduit à la formation d'une imine. Les modifications chimiques induites par les interactions entre les hydroperoxydes de lipides et les protéines se traduisent par des polymères protéine-protéine, des produits d'addition lipide-protéine, et des dégradations d'acides aminés plus particulièrement lysine, cystéine, méthionine, tryptophane (Gardner, 1979).

Les composés carbonylés, notamment les aldéhydes, issus de l'oxydation des lipides réagissent avec les groupements aminés des protéines et forment ainsi des bases de Schiff (Figure 13). Les aldéhydes réagiraient préférentiellement avec les groupements thiol des cystéines et les groupements ϵ aminé des lysines (Gardner, 1979). Les réactions du malonaldéhyde, produits secondaires de l'oxydation des lipides avec les protéines conduit à la formation de groupements carbonyles au niveau des chaînes d'acides aminés (Burcham & Kuhan, 1996). La solubilité, les propriétés émulsifiantes et rhéologiques sont affectées par les réactions entre les produits d'oxydation des lipides et les protéines.

Les liaisons contractées entre les produits d'oxydation des lipides et les protéines sont de trois types : liaison covalente, liaison ionique, liaison hydrogène entre les groupements polaires des lipides oxydés et les protéines (Pokorny, 1977).

III-4- Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances qui sont capables de supprimer, retarder ou empêcher les processus d'oxydation. Les antioxydants de synthèse sont de moins en moins utilisés dans les denrées alimentaires, les antioxydants naturels leur étant préférés. De nombreuses études portent sur la recherche de molécules naturelles ayant des propriétés antioxydantes. Ainsi les sources d'antioxydants naturels sont nombreuses et variées : extrait d'herbe, poudre de miel, extraits de fruits, de légumes, de thé... (Pszczola, 2001).

Les antioxydants sont classés en fonction de leurs mécanismes d'action :

III-4-1- les antioxydants de type I.

L'action des antioxydants de type I repose sur leur capacité à inactiver les radicaux libres. Ils inhibent la propagation des réactions radicalaires en fournissant des hydrogènes aux radicaux libres présents (10).



(AH : antioxydant et A° : radical de l'antioxydant)

Les radicaux A° sont stables et ne possèdent pas l'énergie suffisante pour arracher un hydrogène aux lipides, la propagation s'arrête alors.

Les composés phénoliques naturels : tocophérols, ou de synthèse : butyl-hydroxy-toluène (BHT), gallate de propyl appartiennent à cette classe d'antioxydants (Kortenska et coll., 2002). L'α-tocophérol naturel ou de synthèse est l'antioxydant le plus utilisé. Les tocophérols existent naturellement sous forme de quatre isomères : α, β, δ, γ. L'efficacité d'un antioxydant peut être augmentée par l'utilisation d'un mélange des isomères du tocophérol.

Parmi les extraits naturels qui sont susceptibles d'être utilisés industriellement, les extraits de romarin (*Rosemarinus officinalis L.*) possèdent une activité antioxydante caractérisée par la capacité à inhiber les radicaux libres (Basaga et coll., 1997 ; Vareltzis et coll., 1997). Les molécules responsables de cette activité sont des molécules phénoliques et les acides carnosique et romarinique et carnosol.

III-4-2- les antioxydants de type II

Ce type d'antioxydant prévient la formation des radicaux libres et peut intervenir par différents mécanismes. Certains chélatent les ions métalliques réduisant l'effet pro-oxydant des ions, c'est le cas des acide phosphorique et citrique. De même, des chitosans, polymères constitutifs des carapaces de crabes, ont montré une activité antioxydante sur la chair cuite de Hareng (*Clupea harengus*) conservée 12 jours à 4°C. Cette activité antioxydante est attribuée à la propriété de ces biopolymères à former des complexes avec les métaux de transition (Kamil et coll., 2002). L'acide ascorbique a une activité antioxydante à des concentrations supérieures à 0,5 % tandis qu'il possède un effet pro oxydant à faible concentration : 0,02-0,03 % (Decker et Xu, 1998).

III-4-3- Les antioxydants de classe III

Ils regroupent les facteurs de l'environnement qui ont une action antioxydante en agissant sur le potentiel redox du milieu, la température, la pression en oxygène, la lumière. L'emballage des produits permet ainsi de minimiser l'exposition à l'air et à la lumière. La mise sous vide permet de limiter les réactions d'oxydation et donc de prolonger la durée de vie des produits. L'emballage peut également être réalisé sous atmosphère modifiée (azote ou CO₂), méthode efficace mais peu utilisée.

III-4-4- Les agents synergiques

Ce sont des molécules qui améliorent l'action de certains antioxydants ce qui se traduit souvent par un accroissement de la période de protection. Parmi eux se trouvent : les acides lactiques, tartriques et orthophosphoriques et leurs sels de sodium, potassium ou calcium. L'efficacité des antioxydants peut être augmentée par l'utilisation d'un mélange d'antioxydant de type I et II. L'association de ces deux types d'antioxydants permet d'inhiber les phases d'initiation et de propagation de l'oxydation des lipides (Frankel, 1998).

III-4-5- Autres types d'antioxydants

Certains composés protéiques possèdent une activité antioxydante. C'est le cas par exemple de la carnosine (Kansci et coll., 1997), des concentrés protéiques obtenus à partir du lait. Ils sont susceptibles de complexer le fer. De plus, ils contiennent des composés polyphénoliques et des flavonoïdes présentant une activité antioxydante.

IV- ALTERATION DES LIPIDES LORS DE LA CONSERVATION DU POISSON ET AU COURS DES PROCÉDES DE TRANSFORMATION DU SURIMI

L'altération des lipides est favorisée au cours des procédés de conservation et de transformation des muscles de poisson. La dégradation des antioxydants naturels, l'activation des catalyseurs et les autres mécanismes d'altération *post-mortem* interviennent rapidement au sein du muscle de poisson.

IV-1- Conservation sous glace de la matière première

Les produits de la mer sont des denrées très périssables et nécessitent une rapide réfrigération afin de limiter leur altération. Il est recommandé de les consommer et de les transformer rapidement après capture afin de limiter le développement bactérien et l'apparition d'odeur désagréable. Leur durée de vie varie en fonction des espèces considérées et dépend de la température de conservation et de l'état initial du poisson. La qualité initiale du poisson dépend de ses habitudes alimentaires, des conditions de croissance, de la saison, des conditions de pêche comme par exemple l'écrasement en fond de chalut ou de cale (Garthwaite, 1992).

Après la mort des poissons, les lipoxygénases seraient libérées par la peau et généreraient des hydroperoxydes de lipides au sein des muscles (Rhee, 1988). Ces hydroperoxydes participent à l'initiation et à la propagation de l'auto-oxydation. Cette voie de peroxydation enzymatique nécessite la présence de cofacteurs tel que le NADH et un pH optimal situé entre 6 et 7 dans le cas des muscles de poisson (Rhee, 1988).

Au cours de la conservation à l'état réfrigéré ou sur glace différentes réactions biochimiques ont lieu induisant la formation d'amines et d'hypoxanthine, d'acides gras libres, de composés volatils, et des modifications physico-chimiques du muscle (Nunes et coll., 1992 a). Par exemple, après 3 jours de conservation sous glace des poissons gras, comme des chinchards, des sardines ou des maquereaux, les teneurs en produits secondaires de l'oxydation des lipides et en acides gras libres augmentent (Simeonidou et coll., 1998). En accord avec ces résultats les propriétés biochimiques et sensorielles des sardines (*Sardina pilchardus*) sont conservées jusqu'à deux jours pour des sardines sous glace (Nunes et coll., 1992 a). Cependant, les cinétiques d'altération des propriétés physico-chimiques et sensorielles au cours de la conservation sous glace des poissons varient en fonction des saisons. La formation des composés secondaires de l'oxydation des lipides, l'apparition des composés fluorescents et l'évolution des caractéristiques sensorielles du muscle de poisson au cours de la conservation sous glace sont plus marquées pour les filets de chinchards que dans les chinchards entiers (Aubourg, 2001 b). Au cours de la conservation sous glace de filets de hareng (*Clupea harengus*), une augmentation des concentrations en produits d'oxydation des lipides apparaît après 2-3 jours et l'odeur de rance est détectée après 2,5 jours. En parallèle, les teneurs en antioxydants naturellement présents (α -tocophérol, acide ascorbique, glutathion peroxydase) diminuent (Undeland et coll., 1999).

Les mécanismes de dégradation des lipides au cours de la conservation des poissons font intervenir la voie enzymatique de l'oxydation par les lipoxygénases mais également les réactions d'oxydation catalysées par des facteurs tels que les métaux et les pigments héminiques. L'activité enzymatique de la 12-lipoxygénase est très élevée au cours des premières 24 heures de conservation sous glace de la sardine puis diminue fortement par la suite tandis que l'activité de la 15-lipoxygénase diminue de 50% en moins de 24 heures de conservation sous glace (Medina et coll., 1999). Les protéines héminiques présentent une forte activité pro-oxydante au cours de la conservation des poissons sous glace (Richards et coll., 1998).

Les composés primaires (hydroperoxydes) et secondaires (aldéhydes...) issus de l'oxydation des lipides interagissent avec les composés aminés (acides aminés, peptides, protéines, phospholipides) induisant la formation de composés d'interaction possédant des propriétés fluorescentes. Ainsi, si dans un premier temps, les teneurs en produits secondaires de l'oxydation des lipides (sr-TBA) augmentent au cours de la conservation sous glace des filets de poissons (harengs, chinchards) elle diminue par la suite (Undeland et coll., 1999 ; Aubourg, 2001 b). Cette baisse des quantités de sr-TBA résulte de l'interaction de ces

molécules avec les protéines. La formation des composés fluorescents au cours de la conservation sous glace des filets de harengs (*Clupea harengus*) est plus importante dans la partie sous cutanées des filets que dans la partie ventrale (Undeland et coll., 1999). Ces différences s'expliquent par une activité pro-oxydante supérieure au niveau de la partie sous cutanée riche en muscle rouge, en lipides, en hémoglobine et enzymes.

IV-2- Transformation du surimi

IV-2-1- Effet de la température et du pH

La température et le pH sont des facteurs qui jouent un rôle important lors de la conservation et la transformation des poissons. Ces facteurs influencent l'effet des substances pro et antioxydantes présentes au sein des muscles.

IV-2-2- Filetage et broyage

Le filetage augmente la surface de contact entre l'oxygène et le muscle et le broyage favorise la pénétration de l'oxygène à l'intérieur des tissus (Hultin, 1994). Dans le muscle intègre, la phase lipidique est stable du fait de la présence d'antioxydants et car elle est à l'intérieur de structures (globules gras, membrane) qui ne sont pas en directement en contact avec les agents prooxydant. Le broyage déstructure le muscle et favorise l'oxydation des lipides en permettant le contact entre les lipides et les substances pro-oxydantes libérées lors de la déstructuration des tissus (Huang & Hultin, 1993). La présence de peau au cours du filetage et du broyage mécanique des poissons est un facteur favorisant l'oxydation des lipides (Hultin, 1992). Les lipoxygénases présentes au sein de la peau sont libérées au cours de la phase *post mortem* et lors des étapes de filetage et broyage (German & Kinsella, 1985 ; Rhee, 1988). Le lavage ou le trempage des filets dans une solution d'antioxydant immédiatement après filetage limite le développement des réactions d'oxydation des lipides au cours de ces procédés (Richards et coll., 1998).

IV-2-3- Lavage et raffinage

Au cours de l'étape de lavage, les catalyseurs solubles de l'oxydation des lipides sont mélangés et mis en contact avec les autres constituants tissulaires de la chair de poisson. Les étapes de lavage permettent d'éliminer une partie des lipides et des substances pro-oxydante mais favorise l'élimination des antioxydants naturellement présents (Undeland et coll., 2002 a). L'eau de lavage doit être contrôlée afin d'éviter la présence d'ions métalliques, catalyseurs de l'oxydation des lipides qui peuvent être ainsi introduits au sein du produit. Le délai entre l'étape de broyage du muscle de poisson et le lavage est très important, il doit être limité au maximum afin de minimiser l'oxydation des lipides. L'étape de lavage permet d'ajouter des antioxydants dès le début du procédé.

IV-2-4- Essorage

Au cours de cette étape l'incorporation d'oxygène est favorisée et un échauffement de la chair raffinée se produit.

IV-2-5- Incorporation des cryoprotecteurs

Les cryoprotecteurs sont incorporés à la pâte obtenue en sortie d'essoreuse centrifuge, par un mélangeur à pâle qui en absence de vide incorpore de l'oxygène au produit favorisant son altération. De plus, au cours de cette étape un échauffement de la pâte. L'incorporation des cryoprotecteurs doit être réalisée sous vide et à une température de 4°C.

V- METHODES DE MESURE DE L'ALTERATION DES LIPIDES

V-1- Analyse des produits formés par la lipolyse

Les produits résultants de l'hydrolyse enzymatique des lipides sont des acides gras libres, des monoglycérides, des diglycérides et des lysophospholipides.

La chromatographie en phase gazeuse des lipides neutres triméthylsilylés permet de séparer et quantifier les différents composés résultant de la lipolyse des triglycérides. Cependant ce type d'analyse nécessite d'extraire les lipides, puis les classes de lipides sur colonne de silice par exemple. Enfin les lipides neutres sont triméthylsilylés suivi de l'injection des dérivés TMS en chromatographie en phase gazeuse.

Les glycérides partiels peuvent également être séparés par chromatographie en couche mince en présence d'étalons internes. Les différentes fractions sont récupérées après séparation et sont injectées en chromatographie en phase gazeuse afin de séparer, identifier et quantifier les esters méthyliques d'acides gras de chaque fraction.

La séparation et l'identification des phospholipides de la fraction de lipides polaires peut, par exemple, être réalisée par HPLC afin de déterminer la formation des lysophospholipides.

D'autres techniques permettent de quantifier globalement les acides gras libres présents dans une huile. Il s'agit de méthodes titrimétriques telle que la méthode normalisée ou colorimétrique. Par exemple, le dosage colorimétrique des acides gras libres qui forment un savon avec l'acétate de cuivre en présence de pyridine. Le savon ainsi formé possède un maximum d'absorption dans le benzène à une longueur d'onde de 715 nm (Lowry & Tinsley, 1976).

La spectroscopie infra-rouge permet de déterminer la teneur en acides gras libres au sein d'huiles et d'extraits lipidiques. Cependant la méthode est peu sensible car le groupe carboxylique C=O présente une bande à 1711 cm^{-1} , qui se traduit par un épaulement lorsque la proportion d'acides gras libres est faible par rapport aux lipides totaux (Guillén & Cabo, 1997).

V-2- Mesure de l'oxydation des lipides

Lors des études de cinétique d'oxydation des lipides, l'état d'avancement de la réaction peut être évalué par la mise en évidence de la disparition des substrats de l'oxydation. Afin de déterminer l'état d'oxydation d'un aliment il est nécessaire de mesurer simultanément les quantités des produits primaires et secondaires résultant de l'oxydation des lipides. Une grande variété de méthodes est disponible en fonction de l'information et de la précision recherchées et du substrat étudié (Dobarganes, 2002). Seules les plus fréquemment rencontrées dans les études portant sur l'oxydation des lipides de poissons sont présentées.

V-2-1- Analyse des substrats de l'oxydation

L'étude de la consommation d'oxygène permet de suivre les phases d'initiation et de propagation de la réaction. Les méthodes de mesure sont manométriques (mesure de la pression partielle en oxygène), polarographique (mesure de la consommation d'oxygène), chromatographiques ou gravimétriques par mesure de l'augmentation du poids consécutive à la fixation d'oxygène. Ce type d'analyse est employé pour déterminer les cinétiques d'oxydation des lipides en système modèle pour des tests accéléré d'oxydation ou dans le cas de conservation d'échantillons en emballage étanche. Mais il n'est pas utilisé pour déterminer les degrés d'oxydation d'un produit.

La cinétique de disparition d'un ou plusieurs acides gras peut être étudiée. L'analyse des acides gras est réalisée après extraction des lipides, méthylation des acides gras et chromatographie en phase gazeuse. La difficulté consiste à extraire quantitativement la matière grasse et à minimiser les pertes au niveau des réactions de méthanolyse (Berset & Cuvelier, 1996).

V-2-2- Mesure des produits primaires

Les produits primaires de l'oxydation des lipides peuvent être analysés à l'aide de nombreuses techniques présentant de grandes différences au niveau de leur sensibilité, leur facilité d'utilisation, et la nature de la matrice. Si certaines techniques fonctionnent sur des systèmes « simples », comme des huiles, elles ne sont pas forcément adaptées à des systèmes plus complexes tels que le poisson et ses produits transformés.

Détermination des diènes conjugués

Les produits primaires de l'oxydation des lipides contenant des doubles liaisons conjuguées peuvent être quantifiés par spectrométrie UV (Klein, 1970 ; Corongiu & Banni, 1994). En effet, l'oxydation des acides gras polyinsaturés s'accompagne d'un déplacement des doubles liaisons qui passent de la position malonique à la position conjuguée. Les diènes conjugués absorbent à 232-233 nm et les triènes conjugués à 268 nm, ils peuvent être déterminés par mesure de l'absorbance à ces longueurs d'onde. Cette méthode est rapide une fois les lipides du produit à analyser extraits, mais peu spécifique (Gray, 1978).

Elle convient bien pour le suivi des premiers stades de l'oxydation des lipides dans des systèmes simplifiés ou pour des systèmes biologiques. Cependant cette mesure est moins adaptée aux milieux complexes tels que le muscle ou des aliments solides dans lesquels les risques d'interférences sont nombreux. Un fort bruit de fond résultant d'interférences entre les lipides natifs et les diènes conjugués peut être observé et perturber les mesures (Berset & Cuvelier, 1996). La détermination d'un indice ($I=A_{233 \text{ nm}}/A_{215 \text{ nm}}$) proposé par Klein (1970) permet de limiter l'interférence de ce bruit de fond en mesurant l'absorbance à 214-215 nm correspondant au point isobestique des lipides.

Dosage des hydroperoxydes

Les hydroperoxydes sont des produits intermédiaires instables qui sont rapidement dégradés pour donner des composés hydroxylés et carbonylés. Les concentrations en hydroperoxydes mesurées correspondent en fait à la différence entre formation et décomposition des peroxydes. Les concentrations en hydroperoxydes peuvent être déterminées à l'aide de nombreuses méthodes à adapter en fonction du substrat étudié. Deux groupes de méthodes peuvent être distingués : les méthodes analytiques permettent de déterminer la concentration en hydroperoxydes et les techniques chromatographiques permettant d'identifier et de quantifier la nature et les teneurs en hydroperoxydes spécifiques (Dobarganes et coll., 2002). Ces méthodes chromatographiques comme la chromatographie liquide haute performance (CLHP) couplée à la détection par chemiluminescence (Koskas et coll., 1983 ; Yang et coll., 1991) et la chromatographie en phase gazeuse (CPG) (Van Kuijk et coll., 1990) couplée à la spectrométrie de masse et des méthodes spectroscopiques comme la résonance magnétique nucléaire (RMN) (Frankel, 1990) et infra rouge (IR) (Sergent et coll., 1993 ; Ruiz et coll., 2001) permettent de caractériser les hydroperoxydes dans les systèmes biologiques. Ces techniques sont reproductibles et sensibles mais complexes et inadaptées à des analyses de routine. La spectroscopie en proche infra-rouge appliquée directement sur des lipides est rapide, non destructive et les résultats sont bien corrélés avec les méthodes iodométriques et colorimétriques, mais l'appareillage reste coûteux (Yildiz et coll., 2003).

Les méthodes les plus utilisées pour déterminer les teneurs en hydroperoxydes sont les méthodes iodométriques et colorimétriques. La méthode iodométrique consiste à mesurer l'iode produit par l'oxydation de l'iodure de potassium par les peroxydes présents. L'iode formé est dosé par une solution titrée de thiosulfate de sodium (Lea, 1946 ; AOCS, 1989). Cependant, cette méthode normalisée nécessite une quantité de lipides assez importante. De

plus, l'oxygène de l'air, la présence de lumière et l'absorption de l'iode par les acides gras insaturés interfèrent sur le dosage (Frankel, 1998). Les méthodes colorimétriques sont basées sur le principe de l'oxydation du Fe^{2+} en Fe^{3+} par les hydroperoxydes présents. La méthode au thiocyanate de fer (Chapman & Mackay, 1949 ; Kolthoff & Medalia, 1951 ; Shanta et coll., 1994) est basée sur l'oxydation des ions ferreux en ions ferriques en présence de peroxydes suivi d'une mesure spectrophotométrique du complexe formé entre les ions ferriques et le thiocyanate. La méthode au xylénol orange (Jiang et coll., 1992 ; Wolff, 1994) repose sur l'oxydation en milieu acide des ions ferreux en ions ferriques par les hydroperoxydes de l'échantillon. Le complexe coloré formé entre les ions ferriques et le xylénol orange possède un maximum d'absorption à 560-580 nm. Ces différentes techniques colorimétriques ont été mises au point sur des huiles purifiées (Burat et coll., 1996 ; Nourooz-Zadeh et coll., 1995) ou des liposomes (Jiang et coll., 1991). Elles sont sensibles, rapides et nécessitent une plus faible quantité de lipides que la méthode iodométrique mais elles requièrent une extraction préalable des lipides. Or l'extraction des lipides effectuée en présence d'oxygène, peut générer elle-même des hydroperoxydes et/ou induire la décomposition des hydroperoxydes présents. Une méthode modifiée du dosage des hydroperoxydes par le xylénol orange réalisée sur des extraits tissulaires de mammifères sans extraction des lipides préalable a été proposée par Hermes-Lima et coll. (1995) et a ensuite été appliquée à la chair de poulet (Grau et coll., 2000) et à des végétaux (DeLong et coll., 2002).

V-2-3- Mesure des produits secondaires

Dosage des composés aldéhydiques

La nature des aldéhydes et leurs proportions relatives dépendent beaucoup de l'acide gras oxydé. Deux méthodes colorimétriques sont employées couramment pour les doser : l'indice de p-anisidine et le test à l'acide thiobarbiturique.

La détermination de l'indice de para-anisidine repose sur le principe qu'en milieu acétique la p-anisidine donne un complexe coloré en jaune avec des diénals conjugués. L'indice de p-anisidine est défini comme 100 fois l'absorbance mesurée à 350 nm, d'une solution résultant de la réaction de 1 g de lipides dans 100 mL de solvant contenant la p-anisidine.

Le test à l'acide 2-thiobarbiturique repose sur la formation d'un complexe coloré rose résultant de la réaction entre une molécule de malonaldéhyde et deux molécules d'acide 2-thiobarbiturique. Le complexe coloré formé absorbe à 532-535 nm. De nombreuses adaptations de cette méthode ont été proposées (Vincke, 1970 ; Guillén-Sans & Guzmán-Chozas, 1998 ; Wang et coll., 2002). Des aldéhydes tels que les 4-hydroxy-alcénal, les 2,4-alcadiénal, les 2-alcénal réagissent également avec l'acide 2-thiobarbiturique pour former un complexe coloré (Sun et coll., 2001). C'est la raison pour laquelle le terme de « substances réactives à l'acide thiobarbiture (sr-TBA) est employé. La réaction du TBA est réalisée en milieu acide (pH 1-2) et à haute température (70°C-100°C) pour accélérer la vitesse de réaction et augmenter la sensibilité. Certaines substances de nature glucidique sont susceptibles d'interférer avec le test.

Dosage des composés volatils

L'analyse des composés volatils peut être réalisée par les techniques de l'espace de tête statique ou dynamique couplé à la chromatographie en phase gazeuse et à la spectrométrie de masse (Medina et coll., 1999).

L'analyse des composés volatils par espace de tête statique comporte trois étapes :

- chauffage modéré de l'échantillon placé dans un récipient scellé jusqu'à ce que les composés volatils diffusent dans la phase gazeuse et qu'un état d'équilibre entre les deux phases soit atteint ;
- prélèvement et injection de la phase gazeuse ;
- séparation des composés en chromatographie en phase gazeuse ;

La SPME « Solid Phase MicroExtraction » est une adaptation de cette méthode (Béné et coll., 2001a-b). Elle consiste à plonger une fibre recouverte d'un adsorbant dans l'espace de tête de l'échantillon afin de fixer sur la fibre les différents composés volatils libérés au cours du chauffage. Les composés fixés sur la fibre sont ensuite désorbés lors de l'injection en chromatographie en phase gazeuse.

L'analyse des composés volatils par espace de tête dynamique comporte quatre étapes :

- l'extraction des composés volatils par un balayage de l'échantillon par un flux de gaz inerte (azote)
- le piégeage des composés volatils sur un adsorbant de type Tenax .

- la désorption à haute température des composés volatils suivie d'une cryofocalisation à l'aide d'azote liquide (-120°C) dans une interface capillaire.
- l'injection des volatils, sur une colonne capillaire d'un chromatographe en phase gazeuse afin de les séparer. Les composés sont ensuite identifiés par spectrométrie de masse en sortie de chromatographie et quantifiés par SM soit par un détecteur FID.

Au cours des premiers stades de l'oxydation des lipides les composés présents en faible concentration ne sont pas détectés par la technique de l'espace de tête statique tandis que l'analyse en espace de tête dynamique, plus sensible, permet cette détection. Cependant, cette dernière est plus complexe à mettre en œuvre, moins reproductible et la quantification est plus difficile. Avec la technique par espace de tête dynamique il n'est pas nécessaire d'atteindre l'équilibre entre la phase aqueuse et gazeuse mais en contrepartie les volatils détectés par cette méthode ne reflètent pas forcément l'arôme perçu par le nez humain. La méthode en espace de tête statique semble plus appropriée pour prédire la réponse en analyse sensorielle.

V-2-4- Evaluation sensorielle

Les mauvaises odeurs traduisent les altérations biochimiques d'un produit et sont souvent de très bons indicateurs d'altération (Jacobsen, 1999). L'évaluation sensorielle est souvent considérée comme une bonne méthode d'évaluation d'oxydation des produits. En général, une élévation du niveau de l'oxydation se traduit par une modification de l'odeur ou de l'arôme du produit. De nouvelles notes odorantes apparaissent parmi lesquelles les odeurs qualifiées de rance. Cependant, ce type d'analyse est lourd à mettre en œuvre car il nécessite des locaux appropriés et surtout de constituer un jury d'évaluateurs sensoriels entraînés capables de qualifier et quantifier les odeurs et les goûts perçus. L'analyse sensorielle permet de détecter et d'identifier des odeurs résultant des dégradations lipidiques difficilement mesurables par des méthodes chimiques (Frankel, 1998).

V-3- Analyse des composés résultant de l'interaction entre les produits d'altération des lipides et les protéines

V-3-1- Détermination des composés fluorescents

La fluorescence est le phénomène qui résulte de l'émission de photons par une molécule après excitation de cette molécule par une radiation lumineuse dans l'UV ou le visible. La fluorescence représente un outil d'analyse puissant du fait de sa grande sensibilité et spécificité. Cette technique permet d'obtenir des informations sur la présence de molécule fluorescente et sur leur environnement.

Deux dispositifs permettent de mesurer l'intensité de fluorescence : la spectroscopie de fluorescence à angle droit pour laquelle l'observation de la luminescence est faite à 90° de la direction d'excitation, et la spectroscopie de fluorescence en mode frontal pour laquelle la luminescence est mesurée sur la même face que celle qui reçoit l'excitation. La première technique est adaptée à l'étude des solutions tandis que la deuxième permet l'étude de milieu turbide ou pâteux.

Les chromophores fluorescents produits à partir de phospholipides oxydés et d'esters d'acides gras oxydés en présence de phospholipides possèdent une fluorescence maximale à une longueur d'onde d'excitation (λ_{ex}) de 365 nm et une à longueur d'onde d'émission (λ_{em}) de 435-440 nm. Les bases de Schiff résultant d'interaction avec le malonaldéhyde et les phospholipides présente une fluorescence maximale à $\lambda_{ex} = 400$ nm et $\lambda_{ex} = 475$ nm. Des spectres de fluorescence à des $\lambda_{ex} = 320$ nm et $\lambda_{ex} = 420$ nm résultent d'interactions entre les produits primaires et secondaires de l'oxydation des lipides avec l'ADN en présence de métaux de transition et d'agents réducteurs. Les bases de Schiff résultent d'interaction entre les produits d'oxydation des lipides et différentes molécules présentes aboutissant à un mélange de chromophores aux propriétés fluorescentes très proches.

Différentes techniques de fluorescence ont été utilisées pour déterminer les interactions entre les produits d'oxydation des lipides et les autres composés au sein du muscle de poisson au cours de la conservation. La mesure en fluorescence à angle droit est réalisée sur la phase organique et/ou aqueuse résultant de l'extraction des lipides par un mélange chloroforme/méthanol. Une solution de sulfate de quinine est utilisée pour calibrer l'appareil. Ce type d'analyse réalisé sur du thon après cuisson et au cours de la conservation des sardines a montré que le rapport des intensités de fluorescence mesurées à $\lambda_{ex}/\lambda_{em} : 393/463$ nm et $327/415$ nm est un bon indicateur de la qualité du poisson (Aubourg, 1995 ; 1998 b). La

fluorescence observée est attribuée aux composés de type base de Schiff résultant des interactions entre les protéines et les produits d'oxydation des lipides.

La mesure de la fluorescence en mode frontal est réalisée directement sur l'échantillon (solide, pâteux, visqueux...) et ne nécessite donc pas d'extraction préalable. Cette technique utilisée sur du muscle de sardine délipidé mis en présence d'huile de sardine à permis de mettre en évidence la présence de deux pics de fluorescence (I : ex.370 nm, em. 460 nm et II :ex.450 nm, em.500 nm). Le deuxième pic est corrélé aux mesures d'altération des lipides (Hasegawa et coll., 1992). Les mesures de fluorescence en mode frontal sur des filets de merlan bleu conservé 249 jours à -5°C , -10°C , -15°C et -20°C indiquent une augmentation de l'intensité de fluorescence mesurée à 370/460 nm, d'autant plus rapide que la température de conservation est élevée (Davis, 1982). Une étude récente de Dufour et coll. (2003) a montré la possibilité d'utiliser la spectrométrie en fluorescence frontale pour déterminer un indice de qualité des filets de poisson avant leur transformation.

Détermination de l'altération des protéines

Différentes méthodes peuvent être mises en œuvre afin de déterminer le niveau d'altération des protéines résultant d'interactions avec les produits d'altération des lipides.

La méthode la plus couramment utilisée consiste à déterminer la teneur en groupements carbonylés des protéines. La méthode conventionnelle est basée sur une méthode colorimétrique qui mesure la formation d'hydrazone après réaction de la dinitrophenylhydrazine (DNP) avec les groupements carbonylés (Levine, 1990). Cependant cette méthode nécessite de nombreuses étapes de lavage responsables d'une mauvaise reproductibilité. Afin d'augmenter la reproductibilité et la sensibilité de cette méthode, une technique ELISA basée sur la reconnaissance du complexe protéine-DNP par un anticorps anti-DNP biotinylé a été mise au point par Buss et coll., (1997). Les résultats de cette méthode sont en accord avec ceux obtenus par la méthode colorimétrique, mais la méthode ELISA est plus sensible et nécessite une plus faible quantité de protéines.

L'altération des protéines peut également être évaluée en ciblant les acides aminés particulièrement touchés par l'oxydation.

Les petits pélagiques gras possèdent de fortes teneurs en lipides polyinsaturés qui sont très sensibles aux réactions d'oxydation des lipides. Au cours des procédés de conservation et de transformation de ces espèces, ces réactions entraînent la formation de composés induisant l'altération des propriétés organoleptiques des produits.

L'objectif de cette étude est d'identifier les étapes critiques du procédé de transformation des chinchards, afin de proposer des solutions, permettant de limiter le développement des réactions d'oxydation des lipides responsables de la dégradation du surimi au cours de sa fabrication et de sa conservation. Ainsi, l'étude du développement des réactions d'oxydation des lipides au cours des procédés de conservation et de transformation des chinchards (*Trachurus trachurus*) a été réalisée.

Pour mener à bien ce travail trois études ont été réalisées dans des conditions reproduisant celles rencontrées au niveau industriel. Il s'agissait de déterminer quels étaient les facteurs critiques influençant la qualité des produits au cours de leur conservation et de leur transformation.

Dans un premier temps, il est apparu nécessaire de caractériser la matière première et de déterminer l'évolution des réactions d'oxydation des lipides au cours de sa conservation. Cette étude devait ainsi permettre de déterminer le mode et la durée de conservation des chinchards avant transformation. Deux paramètres de conservation ont été choisis afin de reproduire les conditions de stockage des poissons avant transformation. En effet, dans le cadre d'une fabrication du surimi réalisée à terre, les poissons sont conservés sous glace tandis que dans le cadre d'une transformation à bord de navire usine, les poissons ne sont pas systématiquement réfrigérés avant transformation. Les cinétiques d'oxydation des lipides ont donc été déterminées au cours de la conservation des chinchards sous glace ou à +17°C.

Dans un deuxième temps, il s'agissait d'identifier les étapes critiques du procédé de fabrication du surimi de chinchard afin de pouvoir les contrôler ultérieurement. Ainsi, la formation des composés d'oxydation des lipides a été suivie au cours de la transformation des chinchards. Afin de déterminer l'impact de la qualité de matière première sur celle du surimi et sur le développement des réactions d'oxydation des lipides au cours du procédé, deux lots de chinchards de qualités différentes ont été transformés. Pour la première transformation, le lot de chinchards utilisé a été conservé moins de six heures sous glace, l'idée étant de se rapprocher des conditions rencontrées lors de la transformation à bord d'un navire usine. La durée de conservation sous glace du deuxième lot correspond à celle définie, dans l'étude des

cinétiques d'oxydation des lipides de chinchards, comme étant la durée de conservation limite (36 heures).

Par la suite, la conservation du surimi à l'état congelé a été réalisée en faisant varier différents paramètres. Ces différents facteurs ont été choisis afin de déterminer l'impact de : (i) la mise sous vide lors de l'emballage du surimi, (ii) la présence des cryoprotecteurs, (iii) la qualité initiale du surimi, sur le développement des réactions d'oxydation des lipides au cours de la conservation à -20°C .

Pour ces études, les méthodes permettant d'évaluer l'état d'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation des chinchards ont du être mises en place au laboratoire. Afin d'évaluer le niveau d'oxydation des lipides, les teneurs en produits primaires d'oxydation, diènes conjugués et hydroperoxydes, et en produits secondaires d'oxydation doivent être déterminés. Une grande variété de méthodes sont disponibles pour analyser ces produits (Berset & Cuvelier, 1996 ; Frankel, 1998 c). Cependant, pour ce travail les méthodes ont été choisies en fonction de leur possibilité d'utilisation en routine et sur des matrices alimentaires. La collaboration avec le Laboratoire d'Etude des Interactions des Molécules Alimentaires (LEIMA) de l'INRA de Nantes, expert dans le domaine de l'étude de l'oxydation des lipides en système modèle ou alimentaire, permettait de disposer de nombreuses méthodes d'analyse. Différentes méthodes d'analyse des lipides et de leurs produits d'oxydation ont ainsi été testées sur les chinchards et leurs produits transformés. La plupart de ces méthodes étaient bien adaptées à l'étude de l'oxydation des lipides en systèmes modèles ou sur les produits carnés. Cependant elles se sont souvent révélées peu adaptées aux lipides de poissons et ont nécessité des adaptations. Une partie importante de ce travail a alors été consacré à l'adaptation et à la validation des différentes méthodes. Ainsi, l'ensemble des méthodes d'analyse de l'oxydation des lipides ont été mises en place au laboratoire Génie Alimentaire de l'IFREMER par le biais de ce travail.

I- MODES DE PRELEVEMENT ET DE PREPARATION DES ECHANTILLONS

I-1- Prélèvement et conservation des chinchards (*Trachurus trachurus*) destinés à l'étude de leur conservation sous glace ou à 17°C

Afin d'obtenir des poissons immédiatement après capture, les chinchards ont été prélevés en sortie de chalut, au cours de la campagne en mer EVHOE 2001 (Evaluation Halieutique Ouest Européen) à bord du navire de recherche halieutique IFREMER : La THALASSA. Pour chaque prélèvement, une centaine de chinchards a été prélevée. Les poissons du premier lot ont été conservés entiers dans la glace écaille. Les poissons du deuxième lot, capturés un autre jour et dans une zone de pêche différente, ont été conservés 48 heures à température de bord du navire (+17°C). L'odeur d'altération des poissons à bord, trop importante au delà de 24 heures, n'a pas permis de prolonger la durée de conservation.

Un filet par individu a été prélevé sur dix poissons au bout de 0 (sortie du chalut), 6 heures, 12 heures, 24 heures, 36 heures, 48 heures, 60 heures, 72 heures et 84 heures de conservation sous glace et après 0, 6 heures, 12 heures et 24 heures de conservation à +17°C. Les filets ont été « éponnés » afin de limiter la présence de sang en surface du filet, ils ont ensuite été emballés dans du papier aluminium et plongés dans l'azote liquide. En fin de journée ils ont été placés dans des sacs congélation et scellés sous vide. Les sacs ont ensuite été transférés à -40°C puis stockés à -80°C de retour à terre.

Avant analyse les 10 filets de chaque temps de prélèvement ont été transférés de -80°C à -20°C pendant 12 heures, puis placés 30 minutes à 4°C afin d'être partiellement décongelés. Ils ont ensuite été pelés manuellement et broyés ensemble à l'aide d'un hachoir ménager (*Moulinex HO4, France*) dans une salle réfrigérée (4°C). La chair obtenue a été immédiatement emballée en sachets sous vide (environ 20g) et conservée à -80°C.

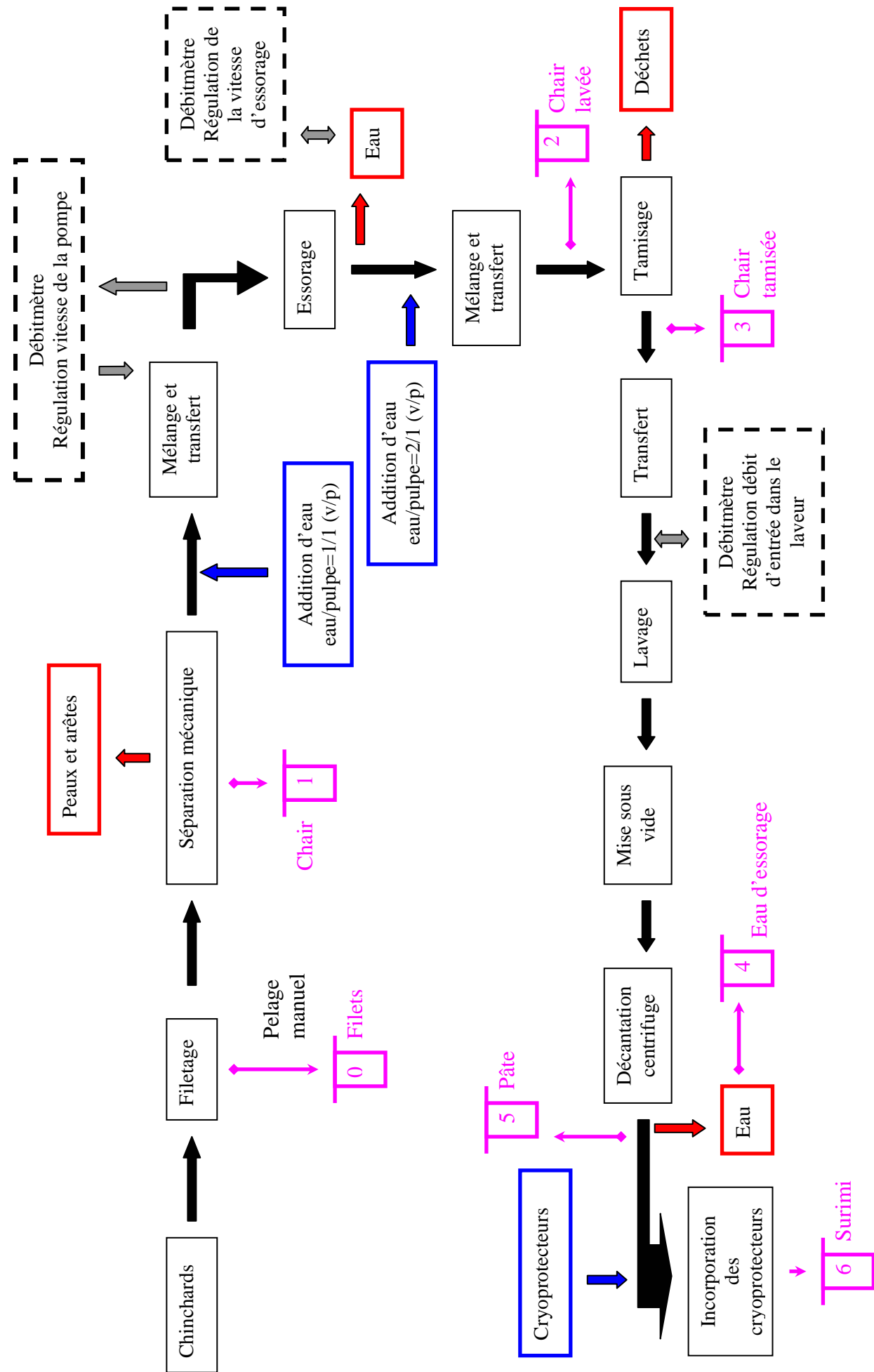


Figure 14 Schéma des différentes étapes et des prélèvements () réalisés sur la chaîne pilote IFREMER de fabrication du surimi de chinchards.

I-2- Fabrication de surimi de chinchard sur la chaîne pilote IFREMER

I-2-1- Matières premières

Deux fabrications de surimi ont été réalisées à partir de chinchards présentant des durées de conservation sous glace différentes.

Une première fabrication de surimi a été réalisée à partir de chinchards qualifiés de « frais » issus de la pêche de la nuit. Les chinchards (*Trachurus trachurus*) ont été pêchés près des côtes de « La Turballe » au mois de juillet 2001 et ont été placés sous glace immédiatement après capture. Les poissons ont été livrés au laboratoire rapidement après le débarquement. Ainsi, la conservation sous glace des poissons n'a pas excédé 6 heures avant transformation.

Une deuxième transformation a été réalisée à partir de chinchards conservés au minimum 36 heures sous glace avant transformation. Les chinchards (*Trachurus trachurus*) ont été livrés sous glace au laboratoire par *Les pêcheries océanes, Saint Gilles Croix de Vie* environ 12 heures après capture. Ces poissons ont été pêchés en février 2002 en mer Atlantique Nord Est. Après leur arrivée au laboratoire, les chinchards ont été conservés 24 heures supplémentaires sous glace dans une salle réfrigérée (+4°C) avant d'être transformés.

I-2-2- Chaîne pilote de fabrication du surimi

La chaîne pilote IFREMER de fabrication du surimi fait intervenir les mêmes opérations unitaires que les chaînes de transformation classiques. Cependant, l'enchaînement de ces opérations a été modifié afin de l'adapter aux poissons gras (Figure 14).

Les filets de chinchards sont prélevés manuellement et rincés à l'eau. Ils sont passés dans un séparateur mécanique (*Baader 694, Allemagne*) dont le diamètre des perforations du tambour est de 3 mm (Figure 15). Cette étape a pour but d'obtenir la chair de poisson et d'éliminer la peau et les arêtes.

La chair obtenue (1) subit une succession d'opérations de lavages, et d'essorages et un tamisage. L'essorage est réalisé par passage de la chair lavée dans un tamis perforé (diamètre des perforations 0,5 mm) où elle est projetée sur le tamis par l'intermédiaire d'un système de pales tournant à faible vitesse (250 tours/minute). L'eau chargée de protéines solubles et de graisse traverse le tamis et est éliminée. La chair essorée subit ensuite un deuxième lavage.

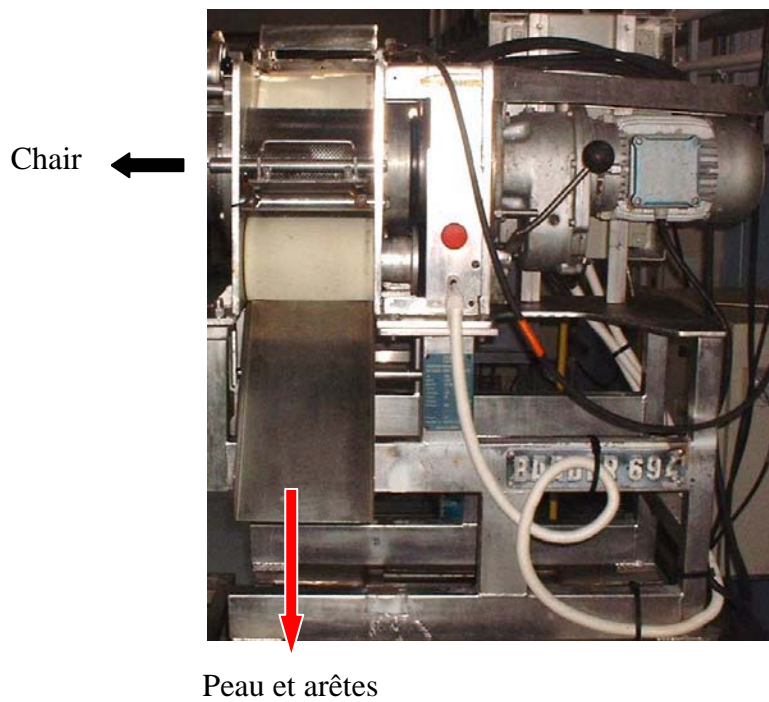


Figure 15 Photographie du séparateur mécanique (*Baader 694, Germany*) utilisé au cours de la première étape de fabrication du surimi afin d'éliminer la peau et les arêtes et d'obtenir la chair de chinchards.

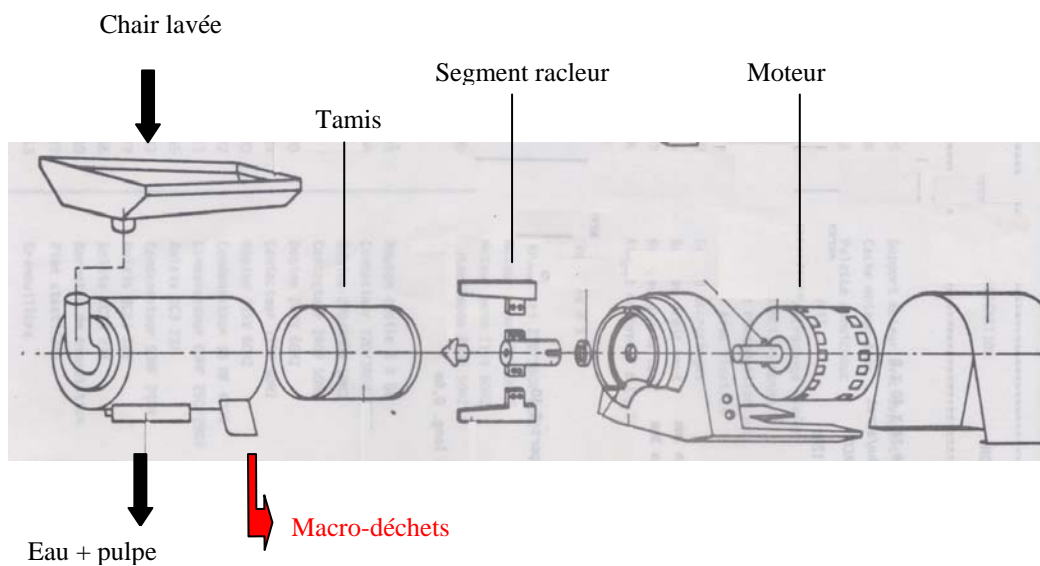


Figure 16 Schéma éclaté de la tamiseuse (*Robot Coupe C120, France*).

La chair lavée (2) est ensuite raffinée afin d'éliminer les fragments résiduels de tissu conjonctif et de peau. Elle est réalisée en continu à l'aide d'un tamis cylindrique perforé (diamètre des perforations 1 mm) où la pulpe est centrifugée à grande vitesse (1500 tours/minute) (Figure 16). La pulpe est ainsi forcée à travers le tamis et les résidus de peau et d'arêtes sont éliminés.

La chair tamisée (3) est ensuite lavée dans un mélangeur statique. Le mélange pulpe-eau est injecté dans un système tubulaire permettant la diffusion rapide des protéines solubles et la séparation mécanique des graisses qui sont émulsionnées dans l'eau. Le mélangeur statique est composé d'éléments mélangeants du type LPD (Low Pressure Drop, *Fluidcontrol, Aubervilliers, France*). Après lavage, le mélange est passé dans un tank sous vide (dépression de 0,8 bar) afin d'éliminer les composés volatils à l'origine des odeurs indésirables des poissons gras.

Le produit obtenu en fin de procédé est essoré dans un décanteur centrifuge (*Sharples, PENNWALT, Angleterre*) (Figure 17). La pâte de poisson ainsi obtenue (5) correspond à un concentré de protéines myofibrillaires. Le décanteur est constitué d'un bol cylindro-conique dans lequel est logé une vis convoyeuse hélicoïdale. Le produit à traiter est introduit dans la chambre d'alimentation de l'ensemble tournant, ce qui permet une distribution régulière du produit. Sous l'action de la force centrifuge, la phase solide est plaquée contre la paroi du bol tandis que le liquide, de densité moins élevée, forme une couche concentrique à l'intérieur de l'anneau formé par les solides. Les solides séparés sont acheminés par la vis convoyeuse vers la partie conique du bol pour être extraits de la phase liquide, et évacués en continu. L'eau d'essorage (4) est évacuée par débordement grâce à des orifices situés à l'extrémité cylindrique du bol.

Le surimi (6) est obtenu par l'incorporation de cryoprotecteurs à la pâte en sortie d'essoreuse centrifuge. Les cryoprotecteurs sont incorporés à raison de 8,2 g de mélange pour 100 g de pâte, les proportions en masse du mélange de cryoprotecteurs constitué de saccharose/sorbitol/polyphosphates étant de 4/4/0,2 (m/m/m). L'incorporation des cryoprotecteurs est réalisée à l'aide d'un mélangeur à pales (*Stephan UM12, Germany*) sous vide en enceinte réfrigérée. Les cryoprotecteurs ont pour rôle de limiter la dénaturation et l'agrégation des protéines du surimi au cours du stockage à l'état congelé (Sych et coll., 1990).

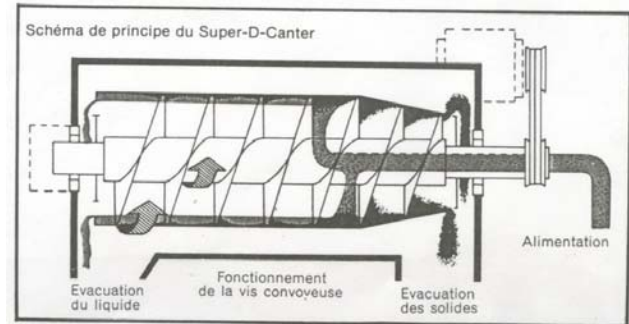
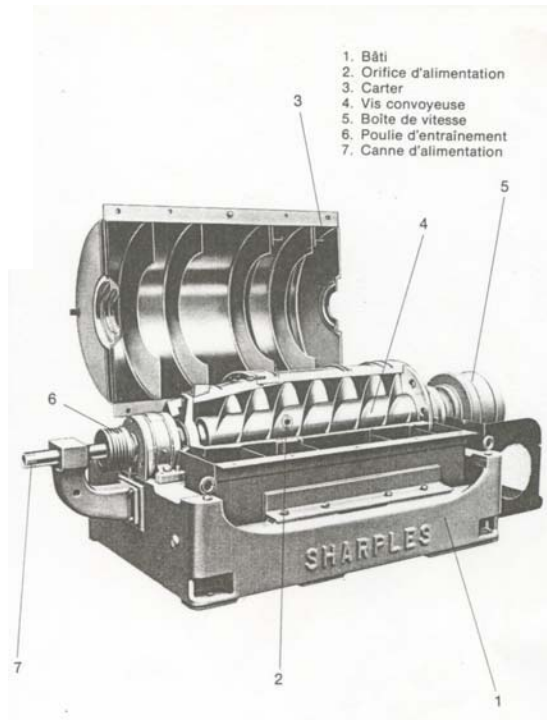


Figure 17 Décanteuse centrifuge (*Sharples, Angleterre*) utilisée lors de la dernière étape d'essorage centrifuge permettant l'obtention de la pâte de poisson (document *Alpha Laval, Suède*).

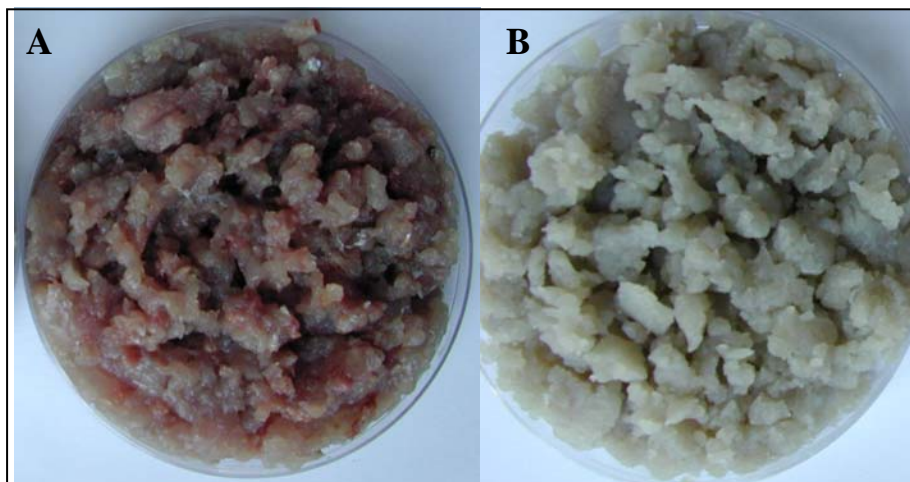


Figure 18 Chair de chinchards obtenue en sortie de séparateur mécanique (A) et surimi de chinchards obtenu en fin de procédé (B) .

I-2-3- Prélèvement des échantillons au cours de la transformation

Afin de déterminer les étapes de la chaîne de fabrication influençant la qualité du produit, des prélèvements ont été réalisés à différents niveaux de la chaîne de fabrication.

Les différents échantillons prélevés sont :

- les filets de chinchards (0)
- la chair en sortie de séparatrice mécanique (1) (Figure 18 A)
- la chair lavée en sortie de laveur (2)
- la chair raffinée en sortie du tamiseur (3)
- l'eau « grasse » en sortie d'essoreuse centrifuge (4)
- la pâte en sortie de l'essoreuse centrifuge (5)
- le surimi (6) (Figure 18 B)

Les échantillons semi-liquide (2) et (3) et liquide (5) ont été conditionnés en pots de 50 mL et conservés à -80°C avant analyses.

Les échantillons solides (chair, pâte et surimi) ont été conditionnés en sachets de 80 g et placés à -80°C sous vide afin d'avoir une congélation rapide. Avant analyse, les échantillons ont été placés 12 heures à -20°C et mis à décongeler 30 minutes à 4°C .

Les 10 filets de chinchard prélevés avant transformation (0) ont été transférés de -80°C à -20°C pendant 12 heures, puis mis à décongeler 30 minutes à 4°C . Ils ont ensuite été pelés manuellement et broyés ensemble à l'aide d'un hachoir ménager (*Moulinex HO4, France*) dans une salle réfrigérée à 4°C . La chair obtenue a été immédiatement emballée en sachets sous vide (environ 20g) et conservée à -80°C avant analyses.

I-2-4- Conservation de la pâte et du surimi à -20°C et -20°C sous vide

Dans le but de suivre l'évolution de la pâte et du surimi, en fonction du mode de conservation, les échantillons issus des deux lots de chinchards ont ensuite été conservés selon trois modes :

- -80°C en emballage scellé sous vide (témoin T0)
- -20°C en emballage scellé sous vide
- -20°C en emballage fermé

Les sachets (180*280 mm) dans lesquels ont été placés les échantillons (*ref 15A, Bourdeau S.A., Saint Etienne de MontLuc, France*) sont de qualité alimentaire et appropriés à l'emballage industriel des produits de la mer. Ils sont en matière plastique fabriquée à partir de monomères de polyamide (PA) et polyéthylène (PE), PA/PE=20/70. L'épaisseur du film est de 90 μm , il constitue une bonne barrière à l'oxygène, la perméabilité à l'oxygène étant de 40 à 50 $\text{cm}^3 \cdot \text{m}^{-2}$.

Les échantillons de pâte et de surimi obtenus à partir de chinchards « frais » ont été analysés avant les tests de conservation (témoins T_0) et après 4 mois, 8 mois et 12 mois de conservation.

II- ANALYSES BIOCHIMIQUES

II-1- Détermination de la teneur en eau et en lipides totaux des échantillons

II-1-1- Teneur en eau

Environ 10 g d'échantillon (M_1) sont pesés précisément dans des coupelles inox et placés une nuit (15 heures) à l'étuve à 110 °C. Après refroidissement dans un dessiccateur, la matière sèche obtenue est pesée (M_2). Les analyses sont réalisées en triple.

La teneur en eau des échantillons est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Teneur en eau (g/100g)} = \frac{(M_1 - M_2) \times 100}{M_1}$$

La proportion de matière sèche est calculée selon la formule :

$$\text{Matière sèche (MS) (g/100g)} = \frac{M_2 \times 100}{M_1}$$

Les résultats sont calculés à partir de la moyenne des trois déterminations.

II-1-2- Extraction des lipides totaux par la méthode de Folch et al.(1957)

Choix de la méthode

Afin de réaliser l'extraction des lipides du muscle de chinchard, les méthodes de Bligh & Dyer (1959) et de Folch et coll. (1957) ont été comparées. Ces deux méthodes font appel à une extraction des lipides par un solvant organique, le chloroforme, en présence d'un alcool, le méthanol, qui dissocie les interactions des lipides avec les autres constituants membranaires. Deux solvants, le chloroforme et le dichlorométhane ont été testés afin de déterminer si le chloroforme pouvait être remplacé par le dichlorométhane pour des raisons de toxicité avérée du chloroforme. La méthode de Folch et coll. (1957) a été réalisée selon la méthode originale. Par contre pour la méthode de Bligh & Dyer (1959), les volumes initiaux des solvants ont du être multipliés par un facteur 5 du fait des faibles taux de lipides obtenus et du manque de reproductibilité en opérant avec la méthode originale. Cette dernière a en effet été mise au point pour extraire des lipides de muscle de cabillaud ayant une teneur en lipides proche de 1 g/100 g soit au minimum cinq fois moins élevée que celle du muscle de chinchard. Les résultats obtenus n'indiquent pas de différence significative entre les résultats (teneurs en lipides totaux) obtenus en utilisant les deux méthodes testées. Par contre, l'utilisation du chloroforme conduit à des teneurs en lipides légèrement plus élevées (Annexe 1). Les compositions en acides gras des différents extraits lipidiques de chinchards sont globalement similaires quelle que soit la méthode utilisée. De plus les proportions des différentes fractions de lipides, lipides neutres et lipides polaires, ne varient pas en fonction des méthodes d'extraction et du solvant utilisés. Du fait, des faibles différences obtenues, de la précision de la méthode et de l'hétérogénéité des échantillons, il apparaît que les quatre méthodes testées peuvent être utilisées pour l'extraction des lipides du muscle de chinchard. La méthode de Folch et coll. (1957) est plus rapide (une seule séquence de mélange) et était déjà utilisée par le LEIMA. Contrairement à la méthode de Bligh & Dyer (1959) elle peut être utilisée quelles que soit les concentrations en lipides de l'échantillon sans nécessiter d'adaptation des volumes de solvants. Ces éléments ont orienté le choix de la méthode d'extraction des lipides vers cette méthode en utilisant le dichlorométhane comme solvant d'extraction.

Broyeur/Homogénéisateur
(HO4 Edmund-Buller, Allemagne)

Bol contenant
l'échantillon dans le
solvant d'extraction

Double enveloppe
permettant la circulation de
l'éthylène glycol (-2°C)

Interconnexion permettant
la réfrigération du bol
d'extraction ou du système
d'évaporation

Evaporateur rotatif
 Réfrigérant
 Bain-Marie

Refroidisseur à
circulation (-2°C)
Minichiller, Fisher
Bioblock Scientific

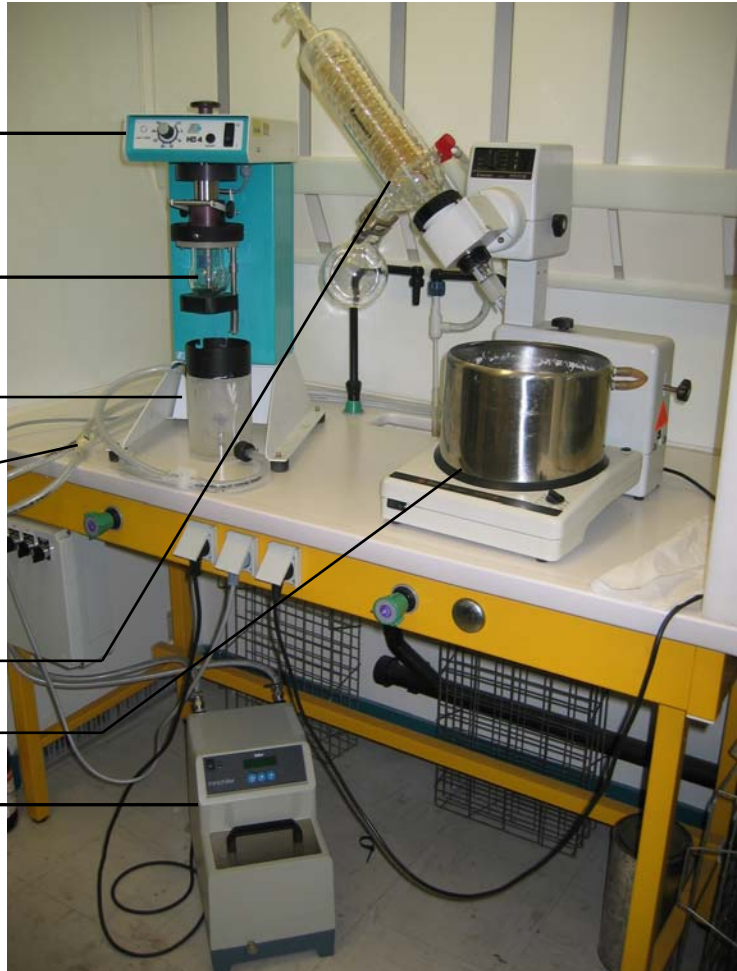


Figure 19 Installation mise en place au laboratoire GA/IFREMER pour l'extraction des lipides.

Principe

Cette technique repose sur le principe d'une extraction à froid des lipides par un mélange de solvant méthanol/dichlorométhane (1/2 ; v/v). L'addition d'une solution aqueuse de NaCl à 0,58 % (m/v) permet la séparation des phases. La phase supérieure constituée de méthanol et d'eau contient les composés hydrophiles (glucides et protéines) dont la dissolution est favorisée par la présence de sel tandis que les lipides sont dissous dans la phase organique inférieure.

Protocole

Les solvants dichlorométhane (*stabilisé à l'éthanol, RS qualité HPLC ref 463291*) et méthanol (*RS qualité HPLC, ref 525101*) proviennent de chez *Carlo Erba, France*. Il sont additionnés de 25 mg/L de BHT (*Butyl Hydroxytoluène ; Sigma ref B-1378*) afin de limiter l'oxydation lipidique au cours des extractions. Les extractions sont effectuées en plaçant systématiquement les récipients contenant les échantillons dans de la glace et à l'abri de la lumière. Le matériel, mis en place au début de ce travail, pour réaliser cette méthode dans de bonnes conditions de température (réfrigération du matériel d'extraction) est présenté (Figure 19).

5 g d'échantillon sont laissés à imbiber 10 minutes dans un ballon placé dans la glace contenant 33 mL de méthanol froid (4°C). L'ensemble est ensuite homogénéisé (homogénéisateur *Edmund Bühler HO4, Allemagne*) pendant 5 minutes dans un ballon réfrigéré par un système de double enveloppe et circulation d'éthylène glycol à 0°C. 66 mL de dichlorométhane sont ensuite ajoutés et l'ensemble est homogénéisé 5 minutes (0°C) puis filtré sur filtre (*Watman GF/A φ 55 mm*) en microfibres de verre. Le filtrat est transvasé en ampoule à décanter et 22 mL d'une solution de NaCl (*Panréac, Espagne, ref 131659*) à 5,8 g.L⁻¹ sont ajoutés. L'ensemble est agité puis mis à décanter 6 heures à +4°C et à l'obscurité. La phase organique inférieure est ensuite prélevée et filtrée sur sulfate de sodium anhydre (*Panréac, Espagne, ref 131716*). Le filtrat est évaporé à 35°C sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif (*Heidolph 94200, Bioblock Scientific, France*). L'extrait lipidique obtenu est séché 15 minutes sous courant d'azote puis repris dans 10 mL de chloroforme (*stabilisé à l'éthanol, RPE, Carlo Erba, France, ref 438603*) et conservé à -20°C dans des flacons hermétiques en verre ambré. La pesée du ballon contenant l'extrait lipidique après évaporation du solvant et à vide permet de calculer la teneur en lipides exprimé en g de lipides

pour 100 g d'échantillon matière humide (MH). Les résultats sont également exprimés par rapport à la matière sèche (g/100 g MS). Trois extractions minimum sont réalisées pour un même échantillon et la moyenne des valeurs obtenues calculée.

II-2- Détermination de la teneur en phospholipides

Choix de la méthode

La méthode de dosage des phospholipides proposée par Stewart (1980) a été choisie. Elle présente l'intérêt de ne pas nécessiter de minéralisation des extraits lipidiques. C'est une méthode colorimétrique simple et rapide qui a été testée et mise en place au laboratoire à l'occasion de ce travail.

Principe

Cette méthode colorimétrique est basée sur la formation d'un complexe coloré entre les phospholipides et le ferrothiocyanate d'ammonium (Stewart, 1980). Le complexe coloré formé possède un maximum d'absorption à 488 nm.

Protocole

Le réactif est composé d'une solution aqueuse de trichlorure de fer (27 g/L) (*Fluka Chemica, Sigma Aldrich, France, ref 44944*) et de thiocyanate d'ammonium (30 g/L) (*Fluka Chemica, Sigma Aldrich, France, ref 09940*). Un volume d'extrait lipidique correspondant à 0,5 mg de lipides est évaporé sous courant d'azote puis repris dans 2 mL de chloroforme. 1 mL de réactif est ajouté et le mélange est homogénéisé à l'agitateur de tube (*Vortex*) pendant 30 secondes, puis centrifugé 10 minutes à 6000 rpm. L'absorbance de la phase chloroformique inférieure est mesurée à 488 nm contre le blanc (2 mL chloroforme + 1 mL de réactif).

Une gamme étalon est réalisée pour des quantités variant de 10 à 100 µg de phosphatidylcholine (PC) (*Sigma Aldrich, France*) par tube.

Les résultats sont exprimés en g d'équivalent de phosphatidylcholine (g Eq PC) par g de lipide (g Eq. PC/g lipides) ou par kg d'échantillon (g Eq. PC/kg MH ou g Eq. PC/kg MS).

Les analyses sont réalisées en double sur chacun des trois extraits lipidiques (lipides totaux) préparés pour chaque échantillon.

II-3- Composition en acides gras des extraits lipidiques par chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques d'acides gras

Choix de la méthode

La composition en acides gras des extraits lipidiques des filets de chinchards a été déterminée par chromatographie en phase gazeuse (CPG) des esters méthyliques d'acides gras (EMAG). La méthode utilisée a été mise en place par J. Dumay et J.P. Bergé du laboratoire Génie Alimentaire de l'IFREMER (Dumay, 2003) et a été calibrée lors d'une intercalibration réalisée dans le cadre du programme européen : « *Utilisation and stabilisation of by-products from cod species* » (QLK1-CT2000-01017).

Principe

La chromatographie en phase gazeuse est une méthode de séparation des composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. Un gaz vecteur, appelé phase mobile parcourt un tube appelé colonne, refermant une phase stationnaire. Le mélange à séparer est injecté à l'entrée de la colonne où il se dilue dans la phase stationnaire et est entraîné par la phase mobile. Les solutés, en fonction de leur nature, sont plus ou moins retenus et sortent de la colonne séparés au sein de la phase mobile. Un détecteur placé en sortie de colonne permet de détecter la présence d'un soluté au sein du gaz vecteur. Le temps de rétention caractérise qualitativement la substance concernée. L'amplitude ou l'aire des pics permet de déterminer la concentration des différents solutés dans le mélange initial. Dans le cas des acides gras (AG), l'injection en CPG de l'extrait lipidique est précédé d'une méthylation directe des AG, présents sous forme libre ou estérifiés au glycol dans le mélange, afin de rendre volatils ces acides gras.

Tableau VII Programmation des températures pour la chromatographie en phase gazeuse.

	Température (°C)	Temps (min)
Injecteur	55	0
	55	2
	350	3.48
	350	11.48
	70	11.48
	70	60
Four	50	0
	50	2
	150	7
	230	53.33
	70	53.33
	70	60

Protocole

- Méthylation des acides gras

A 1 mg de lipides sont ajoutés, comme étalon interne, 20 μL d'acide heptadecanoïque (C17 :0) (0,4 mg/mL) en solution dans le benzène/éthanol (4/1 v/v). Le solvant est séché sous courant d'azote. 5 mL de méthanol anhydre contenant 2% (v/v) d'acide sulfurique (99 %) sont ensuite ajoutés et les tubes fermés hermétiquement. Après une nuit à 50°C et retour à température ambiante, 1 mL d'eau distillée et 2 mL de pentane sont ajoutés. Après agitation du mélange et décantation, la phase organique supérieure contenant les esters méthyliques d'acides gras en solution dans le pentane est prélevée pour être injectée en CPG.

- Chromatographie en phase gazeuse

L'appareillage utilisé est un chromatographe *Auto system Gas Chromatography, Perkin Elmer, France*.

Le système d'injection est un système à large volume d'injection fonctionnant en mode Split/Splitless (ouverture de vanne, système PSSI). Le volume injecté est de 15 μL . L'échantillon passe par la chambre d'injection thermostatée initialement à 55°C. Le liner utilisé a une longueur de 8,5 mm et un diamètre interne de 2 mm. Il est constitué de laine de verre sylanisée et permet d'homogénéiser l'échantillon lors de sa vaporisation et avant son entrée dans la colonne.

La colonne est une colonne polaire (BPX70, SGE) dont la phase stationnaire est constituée d'un gel de silice en cyanopropylsiloxane modifié à 70%. La longueur de la colonne est de 60 mètres, elle mesure 0,25 mm de diamètre et l'épaisseur de la phase stationnaire est de 0,25 μm . Le gaz vecteur est l'hélium et la pression en tête de colonne est de 1,72 bar.

La température du détecteur à ionisation de flamme (FID) placé en sortie de colonne est de 300°C. Le détecteur est relié à un système d'acquisition et de traitement du signal (*DIAMIR, Varian, JMBS*).

Les gradients de température réalisés au cours de la chromatographie d'une durée de 60 minutes sont présentés Tableau VII.

Les profils chromatographiques sont traités à l'aide du logiciel *DIAMIR (Varian, JMBS)*. L'identification des acides gras est réalisée par comparaison des temps de rétention obtenus avec ceux d'étalons. La quantification des acides gras est réalisée à partir des courbes de calibration déterminées pour 45 esters méthyliques d'acides gras de standards (Dumay, 2003).

Ces courbes, mémorisées dans le logiciel d'intégration permettent d'obtenir directement les quantités de chaque ester méthylique d'acides gras dans le mélange initial en fonction de l'aire des pics. Les résultats sont exprimés en μg d'acide gras/ $100 \mu\text{g}$ d'acides gras totaux.

Les compositions en acides gras ont été déterminées pour trois extraits lipidiques préparés à partir de chaque échantillon.

III- DETERMINATION DU DEGRE D'OXYDATION DES LIPIDES

III-1- Produits primaires de l'oxydation des lipides

III-1-1- Mesures des diènes conjugués

Choix de la méthode

La mesure des diènes conjugués est une méthode rapide réalisée par mesure spectrophotométrique à 233 nm directement sur l'extrait lipidique. Elle est couramment réalisée sur des extraits lipidiques dans l'hexane, le cyclohexane ou des alcools tels que l'éthanol, le méthanol ou l'isopropanol. Cependant les solvants testés n'ont pas permis la dissolution complète des extraits lipidiques de poissons. Après différents essais, le mélange isopropanol/heptane (3/1, v/v) a été choisi.

Principe

Les diènes conjugués, produits primaires de l'oxydation des lipides se forment par réarrangement des doubles liaisons du radical lipoylé des acides gras polyinsaturés. Ces diènes conjugués possèdent un maximum d'absorption à $\lambda=233 \text{ nm}$ (Klein, 1970 ; Corongiu & Banni, 1994).

Protocole

Un volume d'extrait lipidique, contenant environ 0,5 mg de lipides, est évaporé sous courant d'azote puis repris dans 1 mL d'isopropanol/heptane (3/1, v/v). Le spectre d'absorption de la solution est enregistrée au spectrophotomètre, contre le solvant entre 200 nm et 400 nm. Les absorbances des échantillons sont lues à 233 nm et à 214 nm. L'indice de diènes est obtenu par calcul du rapport des absorbances mesurées à ces deux longueurs d'onde (A_{233}/A_{214}). Ce calcul permet de corriger des variations de concentrations en lipides liés aux prélèvements, car 214 nm correspond au point isobestique (Klein, 1970).

Les analyses ont été réalisées en double sur chacun des trois extraits lipidiques obtenus pour chaque échantillon.

III-1-2- Dosage des hydroperoxydes par la méthode au xylénol orange

Choix de la méthode

Ce dosage colorimétrique a pour objectif de quantifier les hydroperoxydes (ROOH) présents au sein des échantillons. Les méthodes de dosage des hydroperoxydes par le xylénol orange testées sur les extraits lipidiques de chinchard, n'ont pas pu être validées pour ces échantillons. En effet le trouble présent dans le milieu réactionnel ne permettait pas la lecture au spectrophotomètre. Selon une méthode, proposée par Hermes-Lima et coll. (1995), la réaction colorée est réalisée après extraction par le méthanol des hydroperoxydes des tissus de mammifères. Cette méthode permet de travailler directement sur l'échantillon sans passer par une extraction des lipides lourde et susceptible de modifier la teneur initiale en hydroperoxydes. Cette méthode a été testée mais n'a pu être validée. Elle a due être adaptée au muscle de chinchard. Ainsi, la méthode utilisée présentée dans le chapitre 1 de la partie résultats et discussion, a été mise au point au cours de ce travail (Eymard & Genot, 2003).

Principe

En milieu acide, les hydroperoxydes extraits des échantillons par le méthanol, oxydent le Fe^{2+} (présent dans le réactif) en Fe^{3+} . Ce dernier forme un complexe coloré avec le xylénol orange. Ce complexe coloré possède un maximum d'absorption à 560 nm.

Les hydroperoxydes présents dans l'extrait sont alors quantifiés par spectrophotométrie et par référence à une courbe étalon en hydroperoxydes de cumène (CuOOH).

Protocole

A 3 g d'échantillon pesés précisément sont ajoutés 30 mL de méthanol froid (4°C). Le mélange est homogénéisé 15 secondes au broyeur (*Ultra-Turrax, Janke & Kunkel, IKA-WERK*). Après centrifugation 10 minutes à 7000 rpm, le surnageant est filtré sur filtre (*Watman N°1 φ 47 mm, Grosseron, France*). 25 à 150 µL de filtrat sont introduits dans des micro-tubes, le volume est complété à 150 µL avec du méthanol et 1350 µL de réactif FOX 2 sont ajoutés.

Le réactif FOX 2 (Wolff, 1994) est composé d'une solution (100 µM) de xylénol orange ($C_{31}H_{28}N_2Na_4O_{13}S$, *Riedel-de Haën, ref 33825*) dans du méthanol (*RS qualité HPLC, Carlo Erba, ref 525101*) contenant 1/10^e (v/v) d'une solution aqueuse d'H₂SO₄ 250 mM et de sulfate de fer et d'ammonium 2,5 mM ($FeH_8N_2S_2, 6H_2O$; *Fluka BioChemika ref 09719*). Après 50 minutes de réaction à l'obscurité et à température ambiante les absorbances sont mesurées à λ=560 nm contre le blanc composé de 150 µL de méthanol et 1350 µL de réactif FOX 2.

Une gamme étalon d'hydroperoxydes de cumène (*Sigma Aldrich, France*) dans le méthanol est réalisée pour des concentrations variant de 0 à 15 µM. Les concentrations en hydroperoxydes dans les échantillons sont exprimées en équivalents d'hydroperoxydes de cumène (Eq CuOOH) par comparaison à la droite étalon, pour les tubes présentant des absorbances comprises entre 0,3 et 0,6. Les résultats sont rapportés en µmoles Eq CuOOH/g lipides ou en mmoles Eq CuOOH/kg MH ou mmoles Eq CuOOH/kg MS.

III-2- Produits secondaires d'oxydation des lipides

III-2-1- Dosage des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (sr-TBA)

Choix de la méthode

La méthode à l'acide thiobarbiturique est la méthode la plus couramment utilisée pour le dosage des composés secondaires de l'oxydation des lipides. La méthode utilisée pour notre étude est celle mise au point au LEIMA (INRA) (Genot, 1996) qui est une adaptation des méthodes de Salih et coll. (1987) et Bostoglou et coll. (1994). Cette méthode a en effet donné de bons résultats au cours des tests et a été transposée au laboratoire GA (IFREMER) sans modification majeure.

Principe

Les produits secondaires de l'oxydation des lipides les plus couramment dosés sont les aldéhydes. L'acide thiobarbiturique (TBA) réagit avec le malonaldéhyde (MDA) pour former un complexe de couleur rose et/ou jaune possédant un maximum d'absorption à une longueur d'onde de 532 nm. Il réagit également avec d'autres aldéhydes résultant de l'oxydation des AGPI à longue chaîne. La concentration en substances réactives au TBA (sr-TBA), exprimée en équivalent MDA, est évaluée par la lecture de l'absorbance au spectrophotomètre visible des sr-TBA extraites des échantillons par l'acide trichloroacétique (TCA).

Protocole

2 g d'échantillon sont pesés dans des tubes de 25 mL et les tubes sont déposés dans la glace pilée pour limiter l'oxydation. 100 µL de solution de BHT (1 mg/mL) dans l'éthanol et 16 mL d'acide trichloroacétique (*Panréac, Grosseron, France, ref 131067*) à 5% (p/v) sont ajoutés. Le mélange est homogénéisé 3 fois pendant 15 secondes à l'aide d'un homogénéisateur (*Ultra-Turrax, Janke&Kunkel, IKA-WERK, Allemagne*) à une vitesse d'environ 20 000 rpm (réglage 4.5). Le broyat est filtré sur filtres plissés (*Durieux, Grosseron, France, ref B002*). A 2 mL de filtrat sont ajouté 2 mL d'acide thiobarbiturique

(Merck, Grosseron, France, ref 8180). Pour les blanc, 2 mL d'acide thiobarbiturique sont ajoutés à 2 mL d'acide trichloroacétique. Les tubes, fermés, sont mis au bain-marie à 70°C pendant 30 minutes. A la sortie du bain-marie les tubes sont placés dans un bain d'eau froide. Un spectre d'absorbance est réalisé entre 400 nm et 600 nm. Afin de s'affranchir du bruit de fond observé sur les spectres d'absorbance et d'améliorer la sensibilité de la méthode, les mesures d'absorbance à $\lambda_{\max} = 452$ nm et $\lambda_{\max} = 532$ nm sont corrigées suivant les formules (Genot, 1996):

$$A_{532\text{corrigée}} = A_{532} - [((A_{508} - A_{600}) \times (600 - 532)) / (600 - 508)] - A_{600}$$

$$A_{450\text{corrigée}} = A_{450} - [((A_{400} - A_{473}) \times (473 - 450)) / (473 - 400)] - A_{473}$$

La conversion de l'absorbance, mesurée à $\lambda = 532$ nm, en équivalents de malonaldéhyde (mg/kg d'échantillon) est obtenue en utilisant le coefficient d'extinction moléculaire du complexe MDA-TBA : $1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ (Buedge et coll., 1978). Le mode de calcul est le suivant :

$$\text{mg équivalent MDA/Kg} = (A_{\text{corrigée}} \times V_{\text{TCA}} \times 2 \times M \cdot 10^{-2}) / (1,56 \times m)$$

Avec V_{TCA} : volume du solvant d'extraction (16 mL)

m : masse de l'échantillon analysée (g)

M : masse moléculaire du malonaldéhyde = $72 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

IV- ALTERATION DES PROTEINES ET MESURES DES COMPOSES FLUORESCENTS

Choix de la méthode

Certains composés fluorescents résultant d'interactions entre les produits d'oxydation des lipides et les protéines sont des marqueurs de l'altération des poissons. Afin de déterminer la présence de composés fluorescents, la méthode proposée par Aubourg et coll. (1997 ; 1998 b) a été testée. L'intensité de fluorescence est mesurée pour deux pigments, à des longueurs d'onde d'excitation et d'émission de $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}}$: 393/415 nm et $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}}$: 393/463, sur les phases aqueuses et organiques résultant de l'extraction des lipides par la méthode de Bligh & Dyer, (1959). Or, la méthode de Bligh & Dyer, (1959) utilise des faibles volumes de solvant. Nous avons rencontré des problèmes de reproductibilité lors de l'extraction des lipides de chinchards avec cette méthode.

Le spectrofluorimètre (*HITACHI F-4500*) du LEIMA (INRA) est équipé d'un dispositif de mesure en mode frontal et permet de réaliser des spectres en trois dimensions. Cet appareillage permet de mesurer la fluorescence directement sur des échantillons pâteux, sans extraction préalable des lipides, et de balayer simultanément une gamme de longueurs d'onde d'excitation et d'émission. Les composés fluorescents peuvent ainsi être visualisés et leur intensité de fluorescence mesurée. Cette technique est rapide et nécessite peu d'échantillon. Cette méthode a donc été utilisée pour suivre la formation des composés fluorescents et l'évolution de la fluorescence des résidus tryptophanyle des protéines, au cours de la conservation de la pâte et du surimi. Les échantillons de chair de chinchards étaient trop hétérogènes pour permettre l'utilisation de cette technique.

Principe

La fluorescence est le phénomène qui résulte de l'émission de photons par une molécule après excitation de cette molécule à l'aide d'une radiation lumineuse dans l'ultraviolet et le visible. La spectroscopie de fluorescence classique à angle droit ne peut être appliquée à l'étude des systèmes turbides et pâteux. La spectroscopie de fluorescence frontale est une méthode alternative qui permet l'étude de la fluorescence de ces systèmes. Avec le dispositif de fluorescence en mode frontal l'angle d'incidence du faisceau d'excitation forme un angle de 52°.

Protocole

Préalablement à la mesure, l'échantillon est transféré de -20°C à +4°C pendant 30 minutes puis 5 minutes à 20°C. Il est ensuite étalé dans une cellule à trajet réduit en quartz optique de 0,05 cm de trajet optique (*Helma*). L'ensemble est placé dans l'accessoire de fluorescence frontale, l'angle d'incidence du faisceau lumineux est de 52°. L'appareil est un spectrofluorimètre HITACHI F-4500 piloté par le logiciel HITACHI FL-Solution.

Afin de déterminer les composés fluorescents formés au cours de l'altération du surimi, les mesures de fluorescence en mode frontal ont été réalisées directement sur un échantillon de surimi, fabriqué à partir de chinchards frais, conservé 24 heures et 48 heures à +20°C. Par la suite, les mesures de fluorescence en mode frontal ont été réalisées directement sur les

échantillons de pâte et de surimi prélevés au temps initial et après 4, 8 et 12 mois de conservation à -20°C et -20°C sous vide.

Deux types de spectres ont été enregistrés:

- un spectre d'émission obtenu pour une longueur d'onde d'excitation fixée à $\lambda=290$ nm permettant de mettre en évidence la fluorescence émise par les résidus tryptophanyle (Trp).
- un spectre en trois dimensions pour lequel les longueurs d'ondes d'excitation et d'émission sont balayées sur un domaine défini et qui permet de mettre en évidence les différents pics de fluorescence

Les paramètres de mesure pour les spectres d'émission sont:

Longueur d'onde d'excitation : 290 nm
Longueur d'onde d'émission minimale : 300 nm
Longueur d'onde d'émission maximale : 400 nm
Pas d'acquisition en émission : 2 nm
Vitesse de balayage : 240 nm/min
Fente d'excitation : 2,5 nm
Fente d'émission : 2,5 nm
Photomultiplicateur: 700V

Les paramètres de mesures pour les spectres en 3D sont les suivants :

Longueur d'onde d'excitation minimale : 300 nm
Longueur d'onde d'excitation maximale : 590 nm
Pas d'acquisition en excitation : 10 nm
Longueur d'onde d'émission minimale : 300 nm
Longueur d'onde d'émission maximale : 600 nm
Pas d'acquisition en émission : 2 nm
Vitesse de balayage : 12000 nm/min
Fente d'excitation : 5 nm
Fente d'émission : 5 nm
Photomultiplicateur: 950V

Les spectres obtenus sont traités par le logiciel FL-Solution. Les spectres d'émission en deux dimensions permettent de mesurer la longueur d'onde d'émission maximale et l'intensité de fluorescence des résidus tryptophanyle.

Les spectres en trois dimension peuvent également être représentés sous forme de courbes de niveaux. Pour un point donné de la représentation en courbes de niveau, les spectres d'émission et d'excitation en deux dimensions peuvent être visualisés. Ces représentations permettent de visualiser les pics de fluorescence et de déterminer les longueurs d'onde d'émission et d'excitation maximales ainsi que l'intensité de fluorescence des composés correspondant à des longueurs d'onde d'émission et d'excitation déterminées.

V- ANALYSE SENSORIELLE

Choix de la méthode

Dans le cadre de l'étude de l'oxydation des lipides du muscle de chinchards au cours de leur conservation sous glace ou à +17°C, les analyses biochimiques ont été complétées par l'analyse sensorielle. En effet, l'analyse sensorielle se révèle souvent comme une méthode sensible pour détecter la présence de composés volatils issus de l'oxydation des lipides. Afin de discriminer les différents échantillons il a été choisi de demander au jury d'établir un classement des échantillons en fonction de l'intensité de l'odeur de rance perçue.

Principe

Le jury d'analyse sensorielle entraîné à détecter l'odeur de rance sur la base d'huile de poissons gras oxydées, classe les échantillons qui lui sont présentés en fonction de l'intensité de rance perçu.

Protocole

L'analyse sensorielle a été réalisée sur les échantillons de chair de chinchards conservés 72 heures sous glace ou 24 heures à +17°C.

L'analyse sensorielle a été réalisée au laboratoire Génie Alimentaire (IFREMER) en cabines individuelles par un jury composé de 13 personnes entraînées à détecter l'odeur de rance dans des poissons. Douze échantillons de chair de chinchards correspondant aux huit prélèvements (temps 0, 6, 12, 24, 36, 48, 60 et 72 heures) de conservation sous glace et aux quatre prélèvements (temps 0, 6, 12 et 24 heures) de conservation à +17°C ont été présentés de façon aléatoire, en boîte de Pétri fermée, au panel d'analyse sensorielle. Il a été demandé aux 13 membres du jury de classer les échantillons par intensité croissante de l'odeur de rance perçue dans les 12 échantillons. Le classement final des échantillons est obtenu par le calcul de la somme des rangs pour chaque produit.

VI- ETUDE STATISTIQUE

Traitement des résultats des analyses biochimiques

Les analyses de variance à un facteur (ANOVA) ont été réalisées sur l'ensemble des résultats obtenus au cours de ce travail afin de déterminer s'il existait des différences significatives entre les valeurs des différents échantillons. La comparaison des médianes et la recherche des groupes homogènes, c'est à dire la recherche de l'effet significatif, ont été réalisées à l'aide du test non paramétrique de Kruskal-Wallis. En effet, les tests paramétriques ne peuvent pas être utilisés dans la mesure où les résultats obtenus pour les différents échantillons présentent des écarts type trop différents (différences supérieures à un facteur 3). Ces études ont été effectuées grâce au logiciel *Statgraphic plus, version 3, Sigma Plus (Paris, France)*.

Analyse sensorielle

Le traitement statistique utilisé pour mettre en évidence les différences entre les rangs obtenues pour les différents temps et mode de conservation est le test de Friedman.

Le classement obtenu en analyse sensorielle a été comparé au classement des sr-TBA réalisé par ordre croissant des valeurs de sr-TBA, exprimées en mg Eq MDA / kg de chair,

obtenues pour chaque échantillon. La corrélation entre les deux méthodes a été déterminée par le coefficient de Spearman :

$$\text{Coefficient de Spearman} = 1 - 6 \frac{\sum d^2}{n(n^2 - 1)}$$

avec : d = différence obtenue entre le rang d'analyse sensorielle et le rang de sr-TBA pour un échantillon déterminé

n = nombre d'échantillons classés

Analyse des corrélations entre les différentes méthodes d'analyse

Dans le cadre de l'étude de la cinétique d'oxydation des lipides au cours de la conservation des chinchards (Résultats Chapitre 2), une analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée sur toutes les variables afin de visualiser les principales caractéristiques des différents prélèvements et d'analyser les corrélations existantes entre variables. Cette étude a été effectuée grâce au logiciel *Unwin plus, version 3, Sigma Plus (Paris, France)*.

CHAPITRE 1:**MISE AU POINT D'UNE METHODE DE DOSAGE DES
HYDROPEROXYDES PAR LE XYLENOL ORANGE**

Une grande variété de méthodes de dosage des hydroperoxydes est disponible. Les principales méthodes utilisées reposent sur des dosages colorimétriques. Il existe également des méthodes chromatographiques (HPLC et CPG couplée à la spectrométrie de masse) et spectroscopiques (RMN et IR) développées pour caractériser les hydroperoxydes dans des systèmes biologiques (Gray & Monahan, 1992 ; Dobarganes, 2002). Ces techniques sont reproductibles et sensibles mais elles sont complexes (nécessité de traitement préalable de l'échantillon) et non adaptées à des analyses de routines.

La méthode iodométrique (AOAC, 1990) officielle est fréquemment utilisée malgré son manque de sensibilité et la quantité importante de lipides qu'elle requiert. Les méthodes adaptées à des dosages de routine reposent sur des dosages colorimétriques. Ces méthodes, au thiocyanate de fer ou au xylénol, sont basées sur la propriété des hydroperoxydes à oxyder les ions ferreux. L'ion ferrique ainsi produit forme un complexe coloré avec le thiocyanate ou le xylénol orange, la formation du complexe est quantifiée par mesure de l'absorbance au spectrophotomètre.

Dans un premier temps la méthode au xylénol orange, employée en routine au sein du Laboratoire d'Etudes des Interactions des Molécules Alimentaires (INRA, Nantes), a été utilisée. Cette méthode est basée sur le dosage des hydroperoxydes au sein d'une phase lipidique. Afin d'être appliquée au muscle de poisson, elle nécessite une extraction préalable des lipides. Les premiers essais réalisés avec cette méthode sur des extraits lipidiques de muscle de chinchards se sont rapidement révélés infructueux. En effet, lors de la reprise de l'extrait lipidique dans l'isopropanol ou lors de l'addition du réactif au xylénol orange, préparé à base de méthanol, un trouble du milieu réactionnel apparaissait invalidant la mesure au spectrophotomètre. L'apparition du trouble résultait probablement d'une insolubilité des lipides de chinchards dans l'isopropanol ou/et le méthanol. Des essais réalisés avec des solvants moins polaires n'ont pas conduit à une amélioration du dosage.

Tableau VIII Comparaison des méthodes de dosage des hydroperoxydes par le xylénol orange sur des extraits tissulaires.

Hermes Lima et coll (1995)	Grau et coll (2000)	Eymard & Genot (2003)
<p><u>Préparation de l'extrait :</u> Broyage de l'échantillon (foie, muscle souris, écureuil, tortue) dans le méthanol froid (4°C) dans les proportions 1/5 ou 1/10 (poids/volume) Centrifugation et récupération du surnageant</p>	<p><u>Préparation de l'extrait :</u> Broyage de 3g de chair de poulet dans 15 mL méthanol froid (4°C) (proportions 1/5 poids/volume) Centrifugation et récupération du surnageant.</p>	<p><u>Préparation de l'extrait :</u> Broyage de 3g de chair de chinchard dans 30 mL méthanol froid (4°C) (proportions 1/10 poids/volume) Centrifugation et récupération du surnageant par filtration</p>
<p><u>Réactifs:</u> FeH₈N₂S₂ 1 mM dans H₂O H₂SO₄ 25 mM dans H₂O Xylénol orange 1mM dans H₂O</p>	<p><u>Réactifs:</u> FeH₈N₂S₂ 1mM dans H₂O H₂SO₄ 0,25 M dans méthanol Xylénol orange 1mM dans méthanol</p>	<p><u>Réactifs FOX 2:</u> Xylénol orange (0.1mM), FeH₈N₂S₂ (250 µM) et H₂SO₄ (25 mM) dans méthanol/eau (9/1, v/v).</p>
<p><u>Réaction colorée</u> 250 µL FeH₈N₂S₂ 100 µL H₂SO₄ 100 µL Xylénol orange 2 à 100 µL d'extrait Eau qsp 1mL Réaction 30 min minimum à 20°C. Lecture à 580 nm contre le témoin réactif. Quantification par addition de 5 µL d'Hydroperoxydes de cumène (5 nmole) à l'extrait afin de déterminer la variation absorbance induite par les 5 nmoles d'hydroperoxydes introduites.</p>	<p><u>Réaction colorée</u> 500µL FeH₈N₂S₂ 200µL H₂SO₄ 200 µL Xylénol orange X µL d'extrait pour Absorbance 0,7 u.a. Méthanol qsp 2 mL Réaction 30 min minimum à 20°C. Lecture à 560 nm contre le témoin réactif . Gamme étalon en hydroperoxydes de cumène</p>	<p><u>Réaction colorée</u> 25 à 150 µL d'extrait méthanol qsp 150 µL Réactif 1350 µL de réactif FOX2 Réaction 50 min à 20°C. Lecture à 560 nm contre le témoin réactif. Gamme étalon en hydroperoxydes de cumène.</p>
<p><u>Composition du milieu réactionnel :</u> FeSO₄ (0,25 mM) H₂SO₄ (2,5 mM) Xylénol orange(100 µM). (eau/ méthanol : 45/55 v/v)</p>	<p><u>Composition du milieu réactionnel :</u> FeSO₄ (0,25 mM) H₂SO₄ (25 mM) Xylénol orange(100 µM). (eau/ méthanol : 25/75 v/v)</p>	<p><u>Composition du milieu réactionnel :</u> FeSO₄ (0,22 mM) H₂SO₄ (22,5 mM) Xylénol orange(90 µM). (eau/ méthanol : 10/90 v/v)</p>

Une autre méthode, mise au point par Hermes-Lima et coll., (1995) sur des organes et des muscles de mammifères, adapté au muscle de poulet par Grau et coll., (2000) a été testée. Cette méthode présente l'avantage d'être appliquée directement au produit étudié sans passer par une extraction lipidique classique qui peut induire une sous ou une sur-évaluation de la teneur en peroxydes. Les méthodes proposées par ces auteurs font intervenir le dosage au xylénol orange après une extraction des hydroperoxydes de l'échantillon par le méthanol. A différents volumes d'extrait méthanolique (2 à 100 μ L) sont successivement ajoutés les solutions de sulfate de fer et d'ammonium (substrat des hydroperoxydes), acide sulfurique (afin de se placer en milieu acide), et xylénol orange (indicateur coloré). Après 30 minutes de réaction les absorbances sont mesurées à 580 nm contre le blanc. Les concentrations en hydroperoxydes sont déterminées pour les volumes présentant une absorbance de 0,7 à 0,8 afin de se situer dans le domaine de linéarité de la méthode. Les premiers auteurs ont souligné la nécessité d'adapter la méthode à chaque substrat étudié. Les adaptations de Grau et coll., (2001) portent essentiellement sur la proportion de méthanol/eau incorporée lors de l'addition des réactifs, afin d'éviter l'apparition de trouble. De plus la lecture des absorbances est réalisée à 560 nm. Lorsque ces méthodes ont été testées sur la chair de chinchard, l'apparition de trouble pour certains échantillons invalidait les essais qui de plus manquaient de reproductibilité. La comparaison des différentes méthodes est présentée Tableau VIII.

Afin d'adapter ces méthodes au muscle de chinchards, la proportion de méthanol/eau a été augmentée par l'utilisation d'un seul réactif contenant le xylénol orange, le sulfate de fer et d'ammonium et l'acide sulfurique. Il s'agit du réactif Ferrous Oxidation Xylenol orange (FOX2) (Wolff, 1994) initialement utilisé pour le dosage des hydroperoxydes par le xylénol orange dans des phases lipidiques. La méthode d'obtention de l'extrait méthanolique est la même que celle proposée par Hermes-Lima et coll. (1995) avec une proportion chair/méthanol de 1/10 (p/v). Différents volumes d'extrait méthanolique ont été testés pour la réaction colorée afin de déterminer les zones de validité de la méthode. De plus afin de déterminer la longueur d'onde présentant l'absorbance maximale, les spectres d'absorbances ont été réalisés pour une gamme de concentrations en hydroperoxydes de cumène (CuOOH). La gamme étalon en hydroperoxydes de cumène permet de calculer la concentration en hydroperoxyde des échantillons analysés.

Les résultats obtenus sont présentés dans la publication (Eymard & Genot, 2003), rédigée suite à la mise au point de la méthode. La gamme étalon et les spectres d'absorbance réalisés pour différentes concentrations en hydroperoxydes de cumène ont permis de déterminer la longueur d'onde de 560 nm pour mesurer les absorbances du complexe coloré

formé. La zone de validité de la méthode est déterminée pour des mesures présentant des absorbances comprises entre 0,3 et 0,6. Cette zone correspond au domaine de concentrations en CuOOH pour lequel le maximum d'absorption est situé à 560 nm. Pour des concentrations en hydroperoxydes supérieures à 10 μM (absorbance supérieures à 0,6), ce maximum est déplacé à 580 nm. Dans le cas de concentration en CuOOH inférieures à 4 μM (absorbance inférieure à 0,3), la méthode perd sa sensibilité et les points correspondants sont situés sous la droite étalon.

Les concentrations en hydroperoxydes ont été déterminées pour des filets de chinchards prélevés sur des poissons à T₀ ou conservés 12 heures à 17°C et sur la chair des filets à T₀ conservée 24 heures à 20°C. Les concentrations en hydroperoxydes déterminées par ce dosage sont significativement différentes pour les trois échantillons testés. Bien que l'extraction au méthanol ne garantisse pas l'extraction totale des hydroperoxydes la méthode mise en place permet de distinguer significativement des échantillons présentant des teneurs en hydroperoxydes de 0,9 +/-0,04 (T₀) et 1,0 +/-0,06 (T₁₂) mmoles Eq CuOOH/kg MH. Cette méthode sera utilisée pour les déterminations ultérieures des concentrations en hydroperoxydes.

CHAPITRE 2:
CINETIQUE D'OXYDATION DES LIPIDES AU COURS DE LA
CONSERVATION DES CHINCHARDS (*Trachurus trachurus*)
SOUS GLACE OU A 17°C

Cette étude a été mise en place, dans le cadre de l'établissement du cahier des charges fixant la qualité des matières premières avec le partenaire industriel. L'objectif était de déterminer le mode et la durée maximale de conservation des chinchards avant leur transformation. Ces paramètres dépendent du lieu de transformation du surimi. Celle-ci peut être réalisée à bord de navires usines ou dans des usines à terre. Dans le cas d'une fabrication réalisée à bord, les poissons sont rapidement transformés après capture et ne sont pas systématiquement glacés. Dans le cas d'une transformation réalisée à terre, les poissons sont généralement placés sous glace après capture. Afin de prendre en compte ces deux cas, les cinétiques d'oxydation des lipides de chinchard ont été déterminées pour deux modes de conservation : sous glace (lot A) ou à 17°C (lot B) température de la salle de tri du navire.

Les poissons ont été prélevés au cours d'une campagne en mer, réalisée au mois de novembre 2001, à bord du navire de recherche halieutique, La Thalassa. Ce mode de prélèvement a ainsi permis de débiter les tests de conservation des chinchards immédiatement après capture. Cela est rarement le cas des études rencontrées dans la bibliographie pour lesquelles les temps 0 des tests de conservation sont déterminés sur des poissons provenant de marchés locaux et ayant déjà été conservés au minimum 10 heures.

Cette étude avait également pour objectif de valider les méthodes d'analyse des produits d'oxydation des lipides mises en place au laboratoire. Les analyses biochimiques ont été complétées par une analyse sensorielle afin de tenter de relier ces deux types de mesures. En effet, l'analyse sensorielle reflète mieux la qualité des produits telle qu'elle peut être appréhendée par le consommateur. De plus, dans le domaine de l'oxydation des lipides, comme dans celui de la perception des composés d'arômes, l'analyse sensorielle se révèle souvent comme une méthode plus sensible que les techniques analytiques actuellement

disponibles. L'objectif est d'obtenir des références analytiques permettant de corréler les mesures d'oxydation des lipides à un état de fraîcheur, et de disposer ainsi de méthodes permettant d'évaluer la qualité d'un produit.

Tableau IX

Teneur en eau et en lipides des filets de chinchards (*Trachurus trachurus*) prélevés sur des poissons conservés entiers sous glace (lot A) ou à 17°C (lot B). Pour chaque temps de prélèvement les analyses ont été réalisées en triple sur la chair issue du broyage de 10 filets. Pour chaque analyse (pour une même colonne) des lettres différentes indiquent des résultats significativement différents ($p < 0,05$). Les résultats sont exprimés pour 100 g de matière humide (MH) ou 100 g de matière sèche (MS).

- Lot A -			
Conservation sous glace			
Durée de conservation (heures)	Teneur en eau g / 100 g MH	Teneur en lipides	
		g / 100 g MH	g / 100 g MS
0	73,7 ± 0,2 ^d	6,1 ± 0,7 ^d	22,9 ± 2,0 ^{cd}
6	73,8 ± 0,1 ^{de}	7,0 ± 0,1 ^e	26,7 ± 0,5 ^e
12	75,2 ± 0,3 ^g	5,1 ± 0,3 ^{cd}	20,6 ± 1,2 ^{bc}
24	73,4 ± 0,1 ^d	7,0 ± 0,7 ^e	26,1 ± 2,7 ^{de}
36	74,2 ± 0,6 ^e	5,5 ± 0,9 ^d	21,1 ± 3,3 ^{bc}
48	76,8 ± 0,2 ^h	3,9 ± 0,2 ^a	16,7 ± 0,7 ^a
60	74,7 ± 0,4 ^f	5,2 ± 0,8 ^{cd}	20,7 ± 3,3 ^{bc}
72	76,9 ± 0,1 ^h	3,6 ± 0,1 ^a	15,4 ± 0,4 ^a
84	76,7 ± 0,1 ^h	4,3 ± 0,2 ^{bc}	18,5 ± 0,9 ^a
Moyenne	75,1 ± 1,3	5,3 ± 1,2	22,1 ± 6,3

- Lot B -			
Conservation à 17 °C			
Durée de conservation (heures)	Teneur en eau g / 100 g MH	Teneur en lipides	
		g / 100 g MH	g / 100 g MS
0	69,8 ± 0,3 ^a	10,4 ± 0,9 ^h	34,4 ± 2,9 ^g
6	70,4 ± 0,3 ^b	9,4 ± 0,3 ^{fg}	31,8 ± 1,7 ^{fg}
12	70,8 ± 0,2 ^c	9,8 ± 0,4 ^{gh}	33,6 ± 1,5 ^{fg}
24	71,1 ± 0,4 ^c	8,8 ± 0,6 ^f	30,5 ± 2,2 ^f
Moyenne	70,3 ± 1,0	9,6 ± 0,7	32,6 ± 1,8

I- CARACTÉRISATION BIOCHIMIQUE DES MUSCLES DE CHINCHARDS AU COURS DE LA CONSERVATION DES POISSONS

Les chinchards prélevés immédiatement après capture ont été conservés entiers 84 heures sous glace (lot A) ou 24 heures à 17°C (lot B). Les très fortes odeurs d'altération, perçues dans la salle de tri du navire, après 24 heures de conservation des chinchards à 17°C n'ont pas permis de prolonger la durée de conservation des poissons.

I-1- Teneurs en eau et en lipides totaux

Les lots étudiés pour les deux modes de conservation correspondent à deux dates et deux zones de pêches différentes. La masse et la taille des chinchards varient fortement d'une pêche à l'autre. La masse moyenne d'un individu du lot conservé sous glace est de l'ordre de 120 g tandis que celle du lot conservé à 17°C est deux fois plus importante : environ 250 g. De plus au sein d'un même lot, les tailles des individus sont variables. C'est pourquoi les analyses ont été réalisées sur des échantillons de chair issue du broyage de dix filets prélevés sur dix poissons.

La teneur moyenne en lipides du lot A est de 5,3 (+/- 1,2) g / 100 g de chair, celle du lot B atteint 9,6 (+/-0,7) g / 100 g de chair (Tableau IX). Les différences de masse des individus expliquent les fortes variations des teneurs en lipides entre les deux lots. Les teneurs en lipides des échantillons du lot A varient de 3,6 à 7,0 g / 100 g de chair, celles des échantillons du lot B varient de 8,8 à 10,4 g / 100 g de chair (Tableau IX). Les teneurs en lipides sont inversement proportionnelles aux teneurs en eau (Figure 20), observation avérée et constatée par de nombreux auteurs (Nunes et coll., 1992 b ; Aubourg, 2001 b ; Bandarra et coll., 2001).

La teneur en eau du lot A passe de 73,7 à 76,7 g / 100 g au bout de 84 heures de conservation sous glace et celle du lot B varie de 69,8 à 71,1 g / 100 g au bout de 24 heures de conservation à 17°C. Il est difficile d'attribuer l'augmentation apparente de la teneur en eau à une absorption d'eau au cours de la conservation sous glace (Tableau IX). En effet, dans le cas d'une absorption d'eau par les muscles, la teneur en lipide exprimée pour 100 g de matière humide (MH) serait diminuée tandis que la teneur en lipides exprimée pour 100 g de matière sèche (MS) resterait constante. Or, les teneurs en lipides exprimées par rapport à la matière sèche présentent la même évolution que celles exprimées par rapport à la matière humide avec

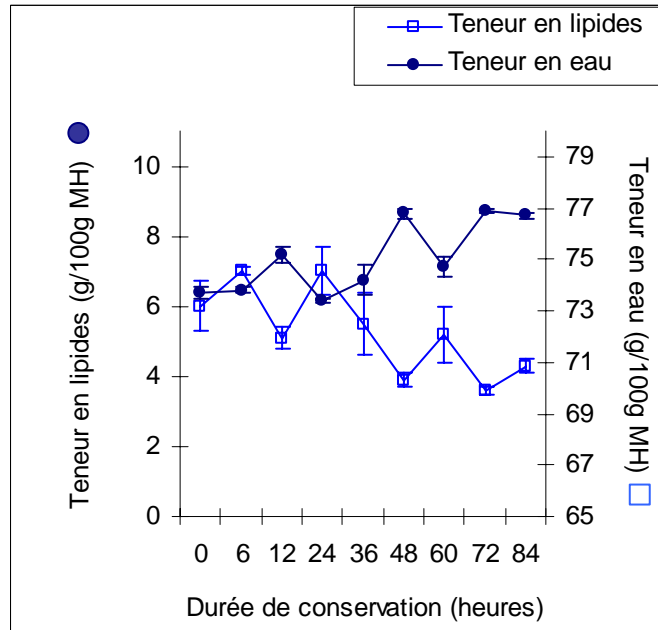


Figure 20 Evolution des teneurs en eau et en lipides des filets de chinchards au cours de la conservation sous glace.

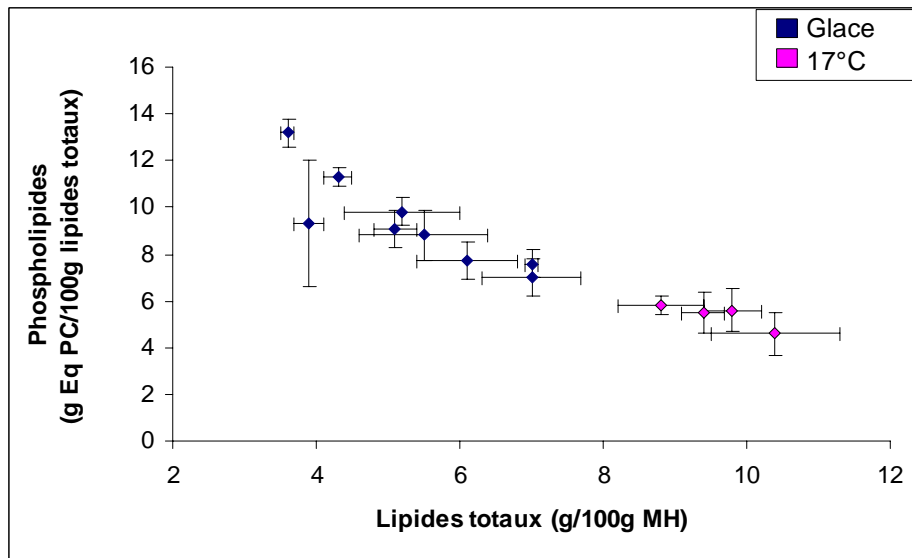


Figure 21 Proportion en phospholipides des lipides totaux de filets de chinchards, prélevés sur des poissons conservés sous glace (lot A) ou à 17°C (lot B), en fonction des teneurs en lipides des filets.

des valeurs variant de 15,4 à 26,7 g / 100 g de matière humide (Tableau IX). Ces variations reflètent plus probablement l'hétérogénéité de la matière première (variation inter individus) et celles liées aux procédés de filetage et pelage manuels. Pour cette étude, un effet de la conservation sur la teneur en eau des poissons ne peut être mis en évidence dans la mesure où le suivi est réalisé sur des individus différents d'un temps de conservation à l'autre. Pourtant, certains auteurs ont observé une légère augmentation de cette teneur en eau après plusieurs jours de conservation sous glace. Cette augmentation a été attribuée à une diffusion de l'eau au sein des structures musculaires lors du contact de la glace avec les poissons (Nunes et coll., 1992 b; Aubourg et coll., 1998 b; Aubourg, 2001 b).

Les variations des teneurs en lipides au sein d'un lot de poissons issus d'une même capture, résulteraient de la variation entre individus liée à leur masse, taille, sexe et âge (Aubourg, 2001 b) et du procédé de pelage manuel au cours duquel une quantité plus ou moins importante de graisse sous cutanée et de muscle rouge peut être retirée. Malgré le nombre de poissons prélevés pour chaque temps de conservation (dix individus) les variations de composition biochimique des poissons entre les différents temps de prélèvements sont très élevées. Cet échantillonnage n'a pas permis de s'affranchir des variations biochimiques entre individus.

I-2- Teneur en phospholipides et composition en acides gras des lipides totaux

I-2-1- Teneur en phospholipides

Les lipides de poisson sont composés de lipides neutres essentiellement des triglycérides (TG) et de lipides polaires constitués majoritairement de phospholipides, les proportions de glycolipides étant faibles (Love, 1992).

Les phospholipides sont des lipides de structure présents en quantité identique dans le muscle de chinchard (0,5 g/ 100 g de chair en moyenne) quels que soient le lot et la teneur en lipides considérés (Tableau X). Ces résultats concordent avec les observations d'autres auteurs pour lesquels la teneur en phospholipides reste constante au sein des muscles de poisson quelle que soit la concentration en lipides (Ackman, 1994; Shewfelt, 1981).

Les travaux de Bandarra et coll. (2001) ont montré une variation des concentrations en phospholipides au sein des chinchards en fonction des saisons ; les teneurs les plus élevées en phospholipides correspondent aux teneurs les plus élevées en lipides. Ce désaccord apparent

Tableau X

Teneurs en phospholipides (g Equivalents phosphatidylcholine) des lipides totaux de filets de chinchards préparés avec des poissons conservés sous glace (lot A) ou à 17°C (lot B). (n=3)

-lot A- Conservation sous Glace			
Phospholipides (Eq PC)			
Temps (heures)	g Eq PC/100g	g Eq PC/100g	g Eq PC/100g
	MH	MS	lipides totaux
0	0,47 ± 0,05	1,8 ± 0,2	7,7 ± 0,8
6	0,53 ± 0,04	2,0 ± 0,2	7,6 ± 0,6
12	0,46 ± 0,04	1,9 ± 0,2	9,1 ± 0,8
24	0,49 ± 0,06	1,8 ± 0,2	7,0 ± 0,8
36	0,48 ± 0,06	1,9 ± 0,2	8,8 ± 1,1
48	0,36 ± 0,11	1,6 ± 0,4	9,3 ± 2,7
60	0,51 ± 0,03	2,0 ± 0,1	9,8 ± 0,6
72	0,47 ± 0,02	2,0 ± 0,1	13,2 ± 0,6
84	0,49 ± 0,02	2,1 ± 0,1	11,3 ± 0,4
Moyenne	0,47 ± 0,06	1,9 ± 0,2	9,3 ± 2,1
Teneur en lipides (g/100g poids sec)		22,1 ± 6,3	

-lot B- Conservation à 17°C			
Phospholipides			
Temps (heures)	g Eq PC/100g	g/100g Eq PC	g/100g Eq PC
	MH	MS	lipides totaux
0	0,48 ± 0,10	1,6 ± 0,3	4,6 ± 0,9
6	0,51 ± 0,10	1,7 ± 0,3	5,5 ± 0,9
12	0,54 ± 0,10	1,9 ± 0,3	5,6 ± 0,9
24	0,51 ± 0,04	1,8 ± 0,1	5,8 ± 0,4
Moyenne	0,51 ± 0,08	1,7 ± 0,3	5,4 ± 0,9
Teneur en lipides (g/100 g poids sec)		32,6 ± 6,3	

avec nos résultats s'expliquerait par le facteur saison qui n'a pas été pris en compte dans notre étude.

Les proportions de phospholipides exprimées en g pour 100 g de lipides totaux sont les plus importantes pour le lot A (9,3 % en moyenne) présentant les plus faibles teneurs en lipides totaux (Tableau X, Figure 21). Ceci traduit le fait que, comme la teneur en phospholipides (lipides de structure) de la chair est identique pour les poissons des deux lots, les variations de teneurs en lipides totaux observées s'expliquent alors par la variation des teneurs en triglycérides. Ainsi, les différences de teneur en lipides entre les deux lots de chinchards est apportée par les lipides neutres qui sont des lipides de stockage tandis que les concentrations en lipides polaires, lipides de structure, sont similaires. Ces observations sont en accord avec les résultats obtenus par Bandarra et coll. (1997) sur des sardines (*Sardina pilchardus*). Ces auteurs ont observé dans des sardines maigres (1,2 g lipides / 100 g muscle) capturés en mars, une proportion de lipides polaires, (11,2 g / 100 g lipides totaux), supérieure à celle, (3,6 g / 100 g lipides totaux), obtenue pour des poissons gras (18,4 g lipides/100 g muscle) capturés en septembre. Les poissons les plus gras présentent les plus faibles proportions de phospholipides. Les baisses des pourcentages en phospholipides résultent de l'augmentation des proportions en lipides neutres (Bandarra et coll., 1997).

I-2-2- Composition en acides gras.

Une quinzaine d'acides gras ont été identifiés dans les lipides totaux de filets de chinchards (Tableau XI). Les compositions en acides gras de ces extraits lipidiques sont en accord avec les compositions présentées dans d'autres études (Bandarra et coll., 2001 ; Passi et coll., 2002).

Les acides gras saturés constituent un peu plus du tiers des acides gras totaux. Ils sont représentés par l'acide myristique (C14 :0), l'acide palmitique (C16 :0) et l'acide stéarique (C18 :0) (Tableau XI). Les acides gras monoinsaturés représentent entre un quart et un tiers des acides gras totaux selon le lot considéré. Ce sont en majorité les acides gras C16 :1, C18 :1. Les acides gras C20 :1, C22 :1 et C24 :1 sont présents en proportions plus faibles. Les acides gras polyinsaturés représentent entre 24 et 39 % des acides gras totaux. Ce sont essentiellement les acides gras de la série ω 3. Il s'agit de l'acide docosahexaénoïque (C22 :6 ω 3), l'acide eicosapentaénoïque (C20 :5 ω 3), l'acide stéaridonique (C18 :4 ω 3) et l'acide arachidonique (C20 :4 ω 3).

Tableau XI Composition moyenne en acides gras (g / 100 g d'esters méthyliques d'acides gras identifiés) des lipides totaux de filets prélevés sur des chinchards conservés entiers sous glace (Lot A) ou à 17°C (Lot B). (n=3)

Acides Gras	Conservation sous glace	Conservation à 17°C
C140	7,8 ± 2,1	8,7 ± 0,2
C160	23,7 ± 1,3	23,0 ± 0,4
C180	5,7 ± 0,8	4,3 ± 0,2
Σ Saturés	37,3 ± 1,4	36,0 ± 0,3
C161 ω7	7,1 ± 0,9	5,5 ± 0,3
C181 ω12	0,4 ± 0,3	0,4 ± 0,1
C181 ω9	16,1 ± 3,0	12,5 ± 0,6
C181 ω6	7,9 ± 1,3	5,6 ± 0,2
C201 ω12	0,4 ± 0,3	0,5 ± 0,1
C221 ω9	1,0 ± 0,4	0,6 ± 0,3
C241 ω9	<0,1	0,5 ± 0,1
Σ MonoInsaturés	33,1 ± 3,4	25,7 ± 1,2
C162 ω4	0,5 ± 0,6	0,4 ± 0,0
C182 ω6	1,1 ± 0,2	1,4 ± 0,1
C183 ω3	0,5 ± 0,2	0,8 ± 0,1
C184 ω3	5,2 ± 3,1	10,0 ± 0,7
C203 ω3	0,6 ± 0,2	0,4 ± 0,1
C204 ω3	5,0 ± 3,1	10,3 ± 0,9
C205 ω3	6,8 ± 1,0	5,7 ± 0,2
C225 ω3	1,1 ± 0,1	0,8 ± 0,1
C226 ω3	8,9 ± 2,5	8,4 ± 0,6
Σ PolyInsaturés	29,6 ± 4,0	38,2 ± 1,0
Teneur Lipides (g/100g MH)	5,3 ± 1,2	9,6 ± 0,7

La proportion d'acides gras saturés est similaire pour les deux lots tandis que les proportions en acides gras insaturés sont différentes (Tableau XI). Le lot conservé sous glace est plus riche en acides gras monoinsaturés : 33,1 % en moyenne, contre 25,7 % pour le lot conservé à 17°C. La différence porte essentiellement sur les acides gras C16:1 ω 7 ; C18:1 ω 9 et C18:1 ω 6 présents en proportions plus importantes au sein du lot conservé sous glace. A l'inverse, la proportion d'acides gras polyinsaturés du lot conservé à 17°C : 38 % des acides gras totaux, est supérieure à celle du lot conservé sous glace : 30 % des acides gras totaux. Ces variations portent sur les acides gras C18:4 ω 3 et C20:4 ω 3 présents en proportion plus importante au sein du lot conservé à 17°C.

La variation des proportions d'acides gras polyinsaturés est, dans certains cas, un marqueur de l'oxydation des lipides (Gray & Monahan, 1992). Les acides gras polyinsaturés à longue chaîne sont oxydés prioritairement et leur proportion diminue au cours de l'avancement des réactions d'oxydation.

Les différences de composition en acide gras observées entre les deux lots pourraient être liées d'une part à un effet lot comme observé précédemment (âge, sexe, taille, alimentation...) et d'autre part aux différences des proportions de lipides neutres et lipides polaires des extraits lipidiques. La proportion des différents acides gras varie en effet en fonction de la fraction lipidique considérée. Dans le cas des petits pélagiques (sardines, chinchards, maquereaux) et de nombreuses espèces de poissons de méditerranée, les proportions d'acides gras saturés sont similaires au sein des phospholipides et des lipides neutres. Par contre, la proportion d'acides gras monoinsaturés est supérieure dans les triglycérides tandis que la proportion d'acides gras polyinsaturés est plus élevée dans les phospholipides (Bandarra et coll., 1997 ; Passi et coll., 2002). Pour la plupart des espèces de poissons de Méditerranée, et notamment les petits pélagiques, les phospholipides présentent une forte proportion de C22:6 ω 3, une plus faible proportion de C20:5 ω 3 et très peu de C22:1 et C20:4 ω 6 (Passi et coll., 2002)). Par contre, les triglycérides présentent une forte proportion de C18:1, C20:1 et C22:1 et un rapport C22:6 ω 3/ C20:5 ω 3 plus faible.

Le lot conservé à 17°C est plus homogène que le lot A, les teneurs en lipides et en phospholipides sont proches pour les différents temps de prélèvement. Les proportions d'acides gras saturés ou insaturés ne présentent pas de différence significative en fonction des différents prélèvements (Figure 22, Annexe 3). La conservation des chinchards 24 heures à 17°C n'induit pas de modification de la composition en acides gras.

Tableau XII Evolution des proportions d'acides gras saturés, monoinsaturés et polyinsaturés des lipides totaux de filets de chinchards au cours de la conservation sous glace (Lot A) ou à 17°C (Lot B) des chinchards (*Trachurus trachurus*). Pour chaque colonne des lettres différentes indiquent des résultats significativement différents ($p < 0,05$). (n=3)

-Lot A- Conservation sous GLACE				
Temps (heures)	AG Saturés (g/100g lipide)	AG Monoinsaturés (g/100g lipide)	AG Polyinsaturés (g/100g lipide)	Teneur en lipides (g/100g MH)
0	34,9 ± 0,7 ^a	32,0 ± 1,9 ^{bc}	33,1 ± 2,6 ^{bc}	6,1 ± 0,7 ^d
6	38,6 ± 1,1 ^c	31,2 ± 0,8 ^c	30,2 ± 1,7 ^{ab}	7,0 ± 0,1 ^e
12	38,6 ± 1,4 ^c	38,6 ± 1,4 ^c	28,2 ± 1,8 ^{ab}	5,1 ± 0,3 ^{cd}
24	36,1 ± 3,2 ^{abc}	27,6 ± 0,3 ^b	36,6 ± 3,0 ^{bc}	7,0 ± 0,7 ^e
36	37,2 ± 1,3 ^{abc}	38,5 ± 1,4 ^e	24,3 ± 2,7 ^a	5,5 ± 0,9 ^d
48	36,8 ± 0,4 ^{bc}	38,7 ± 1,2 ^d	27,6 ± 0,7 ^a	3,9 ± 0,2 ^a
60	38,7 ± 1,2 ^{bc}	33,6 ± 0,6 ^c	27,7 ± 1,4 ^{ab}	5,2 ± 0,8 ^{cd}
Moyennes	37,3 ± 1,4	33,1 ± 3,4	29,6 ± 4,0	5,6 ± 1,2

-Lot B- Conservation à 17°C				
Temps (heures)	AG Saturés (g/100g lipide)	AG Monoinsaturés (g/100g lipide)	AG Polyinsaturés (g/100g lipide)	Teneur en lipides (g/100g MH)
0	35,8 ± 0,5 ^{ab}	27,1 ± 1,1 ^b	37,1 ± 1,5 ^c	10,4 ± 0,9 ^h
6	36,4 ± 0,7 ^{abc}	25,2 ± 0,0 ^a	38,4 ± 0,7 ^c	9,4 ± 0,3 ^{fg}
12	36,0 ± 0,4 ^{ab}	24,4 ± 0,9 ^{ab}	39,6 ± 1,2 ^c	9,8 ± 0,4 ^{gh}
24	35,8 ± 0,3 ^{ab}	26,3 ± 1,0 ^{ab}	37,9 ± 1,1 ^c	8,8 ± 0,6 ^f
Moyennes	36,0 ± 0,3	25,7 ± 1,2	38,2 ± 1,0	9,6 ± 0,7

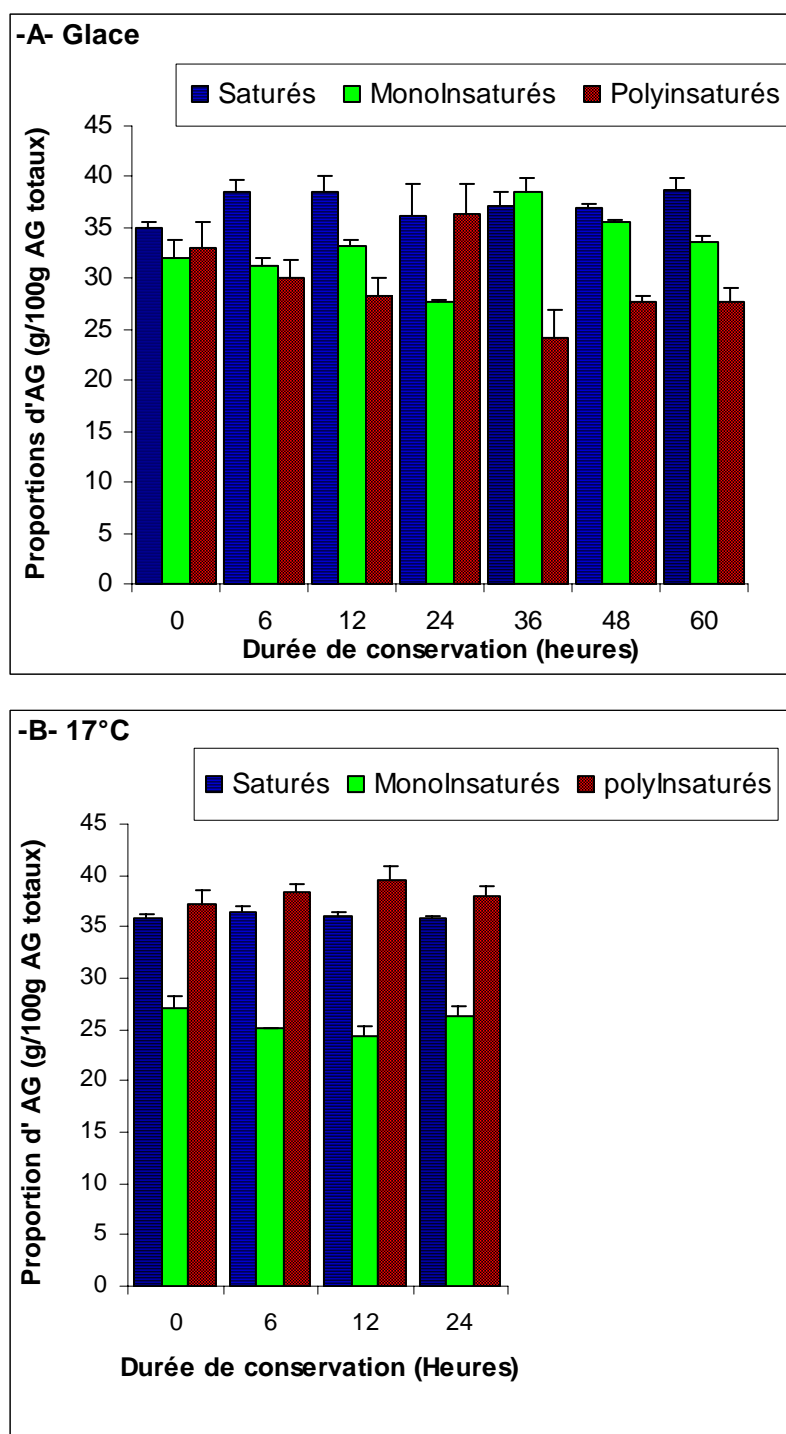


Figure 22 Evolution des proportions d'acides gras saturés, monoinsaturés et polyinsaturés (g/100 g acides gras totaux) des lipides totaux de filets de chinchard, au cours de la conservation sous glace (A) ou à 17°C (B) des chinchards (*Trachurus trachurus*) (n=3).

Au cours de la conservation sous glace, les proportions d'acides gras saturés varient peu, seule la proportion d'acides gras saturés des filets prélevée au temps initial (T_0) est inférieure à celle des autres prélèvements (Figure 22 ; Annexe 3). Les proportions d'acides gras monoinsaturés augmentent avec la durée d'entreposage notamment pour les temps 36 et 48 heures qui correspondent aux valeurs les plus élevées. Les proportions d'acides gras polyinsaturés ne sont pas significativement différentes pour les durées de conservation étudiées hormis pour les prélèvements 0 et 24 heures qui sont significativement différents des prélèvements 36 et 48 heures. La proportion d'acides gras polyinsaturés dans l'échantillon conservé le plus longtemps (60 heures) n'est pas significativement différente de celle déterminée au temps 0. Les variations de la composition en acides gras du lot conservé sous glace ne seraient pas liées à la durée d'entreposage mais résulteraient des différences entre individus. Les teneurs en lipides et les proportions de phospholipides (g pour 100 g de lipides totaux) des différents prélèvements de ce lot sont différentes (Tableau X). Ces différences ne permettent pas de mettre en évidence un effet de la durée de conservation sur la composition en acides gras des extraits lipidiques de chinchard.

II- ÉVOLUTION DU NIVEAU D'OXYDATION DES LIPIDES AU COURS DE LA CONSERVATION DES CHINCHARDS

II-1- Produits primaires de l'oxydation des lipides

II-1-1- Diènes conjugués

Les diènes conjugués, produits primaires de l'oxydation des lipides, se forment par réarrangement des doubles liaisons du radical lipoylé résultant du départ d'un hydrogène sur un acide gras possédant au moins deux doubles liaisons en position 1,4-pentadiène.

Les valeurs de diènes conjugués obtenues pour les échantillons conservés sous glace fluctuent de 0,14 à 0,17 (Tableau XIII, Figure 23). Ces résultats ne permettent pas de mettre en évidence de variation des valeurs de diènes conjugués au cours de la conservation sous glace des chinchards. Ces résultats corroborent ceux obtenus par Aubourg (2001 b) qui n'a pas observé de variations significatives des quantités de diènes conjugués au cours de 19 jours de conservation sous glace de chinchards et de filets de chinchard.

Tableau XIII Evolution des concentrations en produits primaires de l'oxydation des lipides : diènes conjugués et hydroperoxydes, des filets de chinchards prélevés sur les chinchards conservés sous glace (A) ou à 17°C (B). Pour chaque colonne des lettres différentes indiquent des résultats significativement différents ($p < 0,05$) ($n=3$).

-A- Conservation sous glace			
Durée Conservation (heures)	Diènes conjugués A_{233nm}/A_{214nm}	Hydroperoxydes	
		mmoles/kg MH	μ moles/g lipides
0	$0,16 \pm 0,00$ ^b	$0,97 \pm 0,05$ ^a	$16,1 \pm 0,9$ ^b
6	$0,14 \pm 0,00$ ^a	$1,02 \pm 0,08$ ^{ab}	$14,2 \pm 1,2$ ^a
12	$0,16 \pm 0,01$ ^{ab}	$1,10 \pm 0,06$ ^b	$20,6 \pm 1,1$ ^c
24	$0,15 \pm 0,01$ ^b	$0,97 \pm 0,11$ ^{ab}	$13,8 \pm 1,6$ ^a
36	$0,16 \pm 0,02$ ^{ab}	$0,92 \pm 0,10$ ^{ab}	$16,8 \pm 1,8$ ^{ab}
48	$0,17 \pm 0,01$ ^b	$0,97 \pm 0,06$ ^{ab}	$24,7 \pm 1,5$ ^d
60	$0,15 \pm 0,01$ ^{ab}	$0,92 \pm 0,08$ ^{ab}	$17,8 \pm 1,5$ ^b
72	$0,15 \pm 0,00$ ^b	$0,93 \pm 0,06$ ^{ab}	$25,8 \pm 1,6$ ^d

-B- Conservation à 17°C			
Durée Conservation (heures)	Diènes conjugués A_{233nm}/A_{214nm}	Hydroperoxydes	
		mmoles/kg MH	μ moles/g lipides
0	$0,15 \pm 0,01$ ^a	$0,95 \pm 0,03$ ^a	$9,1 \pm 0,3$ ^a
6	$0,18 \pm 0,02$ ^b	$1,01 \pm 0,06$ ^b	$10,8 \pm 0,6$ ^b
12	$0,18 \pm 0,01$ ^b	$1,09 \pm 0,05$ ^b	$11,1 \pm 0,5$ ^b
24	$0,19 \pm 0,01$ ^b	$1,04 \pm 0,09$ ^b	$12,3 \pm 0,5$ ^c

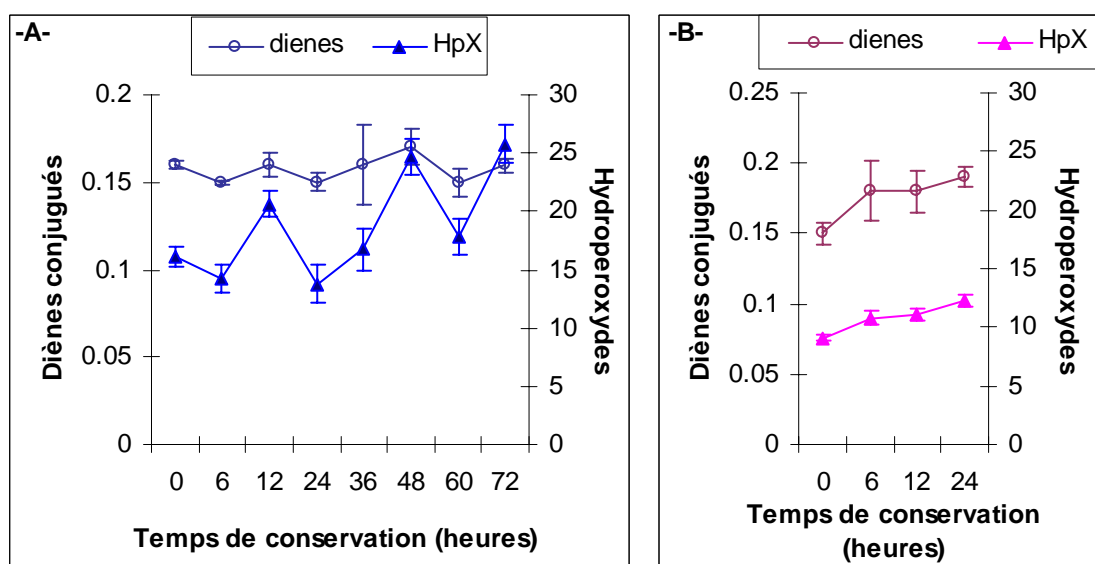


Figure 23 Evolution des concentrations en hydroperoxydes (mmoles Eq CuOOH/ g lipides) et des valeurs de diènes conjugués (A_{233nm}/A_{214nm}) des filets de chinchard prélevés sur des poissons conservés sous glace (Lot A) ou à 17°C (Lot B), ($n=3$).

Au cours de la conservation à 17°C, les valeurs de diènes conjugués augmentent significativement entre 0 et 6 heures de conservation puis se stabilisent (Tableau XIII, Figure 23).

Les diènes conjugués sont formés au cours des premières étapes de l'oxydation des lipides. Après 6 heures de conservation à 17°C, les réactions d'oxydation des lipides semblent amorcées. Par contre il semblerait que la formation des diènes conjugués au cours de la conservation sous glace ne soit pas suffisante pour pouvoir être mesurée.

D'une manière générale, la pertinence du dosage des diènes conjugués pour des extraits lipidiques de poisson soulève des interrogations. En effet, les mesures sont effectuées sur l'extrait lipidique, or une dégradation des hydroperoxydes et des diènes conjugués, produits particulièrement instables dans le cas des acides gras polyinsaturés à longue chaîne, peut survenir au cours de l'extraction. Enfin, les diènes conjugués issus de l'oxydation des acides gras polyinsaturés à longues chaînes présentent des structures complexes pouvant interférer sur les mesures d'absorbance (Aubourg et coll., 1998 b ; Dobarganes & Velasco, 2002).

II-1-2- Hydroperoxydes

Les hydroperoxydes font partie des premiers produits formés au cours des réactions d'oxydation. Ce sont des molécules instables rapidement décomposées en produits secondaires de type aldéhydes, cétones, alcool... Ils ont été dosés directement sur des extraits méthanoliques de chair de poisson selon la procédure mise au point au cours de ce travail de thèse (Eymard & Genot, 2003). Les résultats obtenus ont été présentés selon deux modes d'expression. Les résultats exprimés par kg de chair permettent d'obtenir un indice de la qualité des poissons tandis que ceux rapportés par g de lipides caractérisent le degré d'oxydation des lipides.

Les concentrations en hydroperoxydes des échantillons conservés sous glace, exprimées par kg de chair, fluctuent entre 0,92 et 1,10 mmoles Eq CuOOH/kg MH. Par rapport au T₀, une augmentation de la concentration en hydroperoxydes est observée après 12 heures de conservation (Tableau XIII, Figure 23). Puis les quantités d'hydroperoxydes se stabilisent. Les concentrations en hydroperoxydes, exprimées en µmoles par g de lipide, fluctuent entre 14 et 26 µmoles eq CuOOH/g lipides. Les valeurs obtenues pour des temps de conservation 12 heures, 48 heures et 72 heures sont significativement différentes de celles

obtenues pour les autres prélèvements (Tableau XIII). Les fortes variations des teneurs en lipides des différents prélèvements (Tableau IX) sont probablement à l'origine des différences observées pour les deux modes d'expression des résultats.

Les concentrations en hydroperoxydes mesurées sur les échantillons conservés à 17°C varient de 0,9 à 1,1 mmoles Eq CuOOH/kg MH et de 9,1 à 12,3 µmoles Eq CuOOH/g lipides (Tableau XIII, Figure 23). Après 6 heures de conservation à 17°C, la concentration en hydroperoxydes est supérieure à celle mesurée au temps 0. Puis à 24 heures de conservation la concentration en hydroperoxydes augmente de nouveau de façon significative.

Comparée à la conservation sous glace, la conservation à 17°C semble favoriser la formation des hydroperoxydes. Cependant, les concentrations en hydroperoxydes, exprimées par g de lipides, dans les échantillons du lot conservé sous glace sont systématiquement supérieures à celles du lot conservé à 17°C, ceci dès le début des mesures. Le fait que ces échantillons présentent des teneurs en lipides très différentes rend difficile l'interprétation des résultats. En effet, Nunes et coll. (1992 a) ont observé une évolution des concentrations en hydroperoxydes différente selon la teneur en lipides des sardines (*Sardina pilchardus*). Au cours de la conservation sous glace de ces poissons, la concentration en peroxydes, exprimée par kg de lipides, augmente plus lentement au sein des poissons présentant de faibles teneurs en lipides (1,6 g/100 g chair) que dans les sardines présentant des teneurs en lipides élevées (22,4 g/100 g chair). Dans ce dernier cas, l'augmentation de la concentration en hydroperoxydes est brutale. De même, la concentration en peroxyde des filets de harengs (*Clupea harengus*) augmente après 2 jours de conservation sous glace, plus de peroxydes étant formés dans les parties sous cutanées des filets qui présentent les plus fortes teneurs en lipides (Undeland et coll., 1999).

Les concentrations en hydroperoxydes mesurées au cours des conservations sous glace ou à 17°C présentent les mêmes évolutions que les valeurs de diènes conjugués (Figure 23). Ces fluctuations résulteraient des équilibres entre la formation et la décomposition des produits primaires de l'oxydation des lipides. Au cours de la conservation à 17°C, la formation des produits primaires serait favorisée dans les premières heures de conservation tandis qu'elle serait plus progressive dans le cas de la conservation sous glace. Ces produits primaires, peu stables, sont rapidement décomposés. La quantification des produits primaires de l'oxydation des lipides consiste à mesurer leur concentration à un instant donné. Dans le cas de produits aussi instables que les hydroperoxydes d'acides gras polyinsaturés à chaînes

Tableau XIV Evolution de la concentration en sr-TBA des filets de chinchards au cours de la conservation des chinchards sous glace (lot A) ou à 17°C (lot B). Pour un mode d'expression identique, des lettres différentes indiquent des résultats significativement différents ($p < 0,05$) ($n=5$).

Temps (heures)	Conservation sous glace		Conservation à 17°C	
	mg Eq MDA/kg MH	µg Eq MDA/g lipide	mg Eq MDA/kg MH	µg Eq MDA/g lipide
0	0,27 ± 0,04 ^b	4,5 ± 0,7	0,58 ± 0,03 ^e	5,5 ± 0,3
6	0,29 ± 0,02 ^b	4,2 ± 0,3	1,03 ± 0,08 ^f	11,0 ± 0,9
12	0,18 ± 0,02 ^a	3,5 ± 0,4	1,24 ± 0,09 ^g	12,6 ± 0,9
24	0,20 ± 0,04 ^a	2,9 ± 0,6	0,71 ± 0,09 ^d	8,1 ± 0,9
36	0,27 ± 0,01 ^b	4,9 ± 0,2		
48	0,31 ± 0,03 ^b	8,1 ± 0,7		
60	0,70 ± 0,06 ^d	13,4 ± 1,1		
72	0,50 ± 0,03 ^c	14,4 ± 1,0		
84	0,55 ± 0,02 ^c	12,9 ± 0,6		

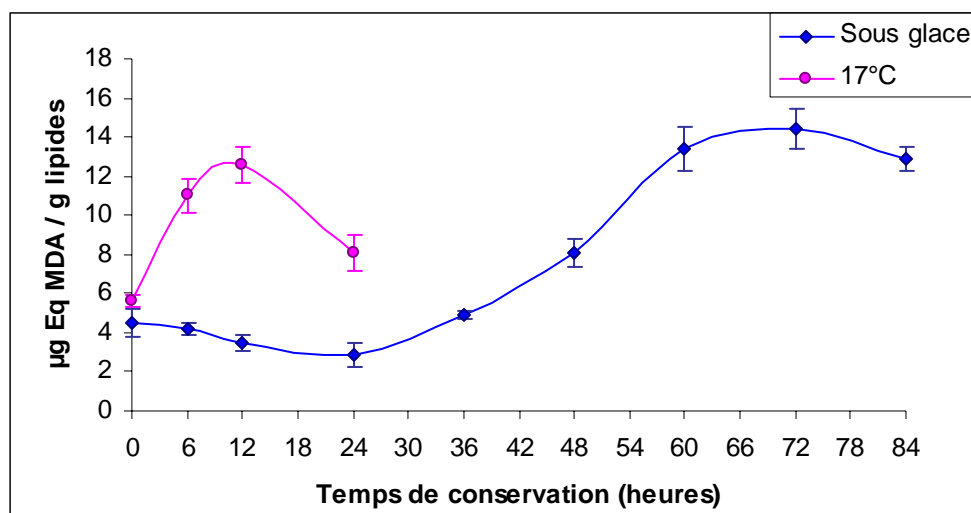


Figure 24 Comparaison des concentrations en sr-TBA (µg Eq MDA/g lipides) obtenues au cours de la conservation des chinchards sous glace ou à 17°C, ($n=5$).

longues, ces mesures ne permettent pas de vraiment déterminer le niveau d'oxydation des lipides car ces produits intermédiaires sont rapidement décomposés en produits secondaires. Quantifier les produits secondaires de l'oxydation des lipides, composés plus stables, est donc nécessaire afin d'estimer de façon plus fiable le degré d'oxydation des lipides.

II-2- Produits secondaires de l'oxydation des lipides

Les produits secondaires de l'oxydation des lipides résultent de la décomposition des produits primaires. Les produits secondaires les plus couramment dosés sont les aldéhydes. L'acide thiobarbiturique réagit avec le malonaldéhyde pour former un complexe coloré. Cependant, il réagit également avec d'autres aldéhydes susceptibles de provenir de l'oxydation des acides gras polyinsaturés à longue chaîne. Ce test n'étant pas spécifique d'une molécule donnée, le terme de substances réactives à l'acide thiobarbiturique (sr-TBA) est alors utilisé.

La concentration en sr-TBA au sein de la chair de chinchard, exprimée par kg de chair, augmente après 48 heures de conservation des chinchards sous glace puis se stabilise après 60 heures avant d'amorcer une décroissance au bout de 72 heures de conservation (Tableau XIV).

Au cours de la conservation à 17°C une augmentation des quantités de sr-TBA est observée dès 6 heures de conservation. La concentration atteint un maximum après 12 heures puis diminue après 24 heures de conservation (Tableau XIV).

La concentration en sr-TBA, exprimée en $\mu\text{g Eq MDA} / \text{g}$ de lipide, est doublée après 6 heures de conservation à 17°C et après 48 heures de conservation sous glace. La concentration maximale en sr-TBA est obtenue après 12 heures de conservation à 17°C et après 60 heures de conservation sous glace (Tableau XIV).

La conservation sous glace retarde fortement l'apparition des composés secondaires de l'oxydation dans le muscle de chinchards. Cependant, quel que soit le mode de conservation, une fois le phénomène d'oxydation amorcé l'augmentation de la concentration en sr-TBA est très brutale. Pour les deux modes de conservation, la concentration en sr-TBA diminue après avoir atteint un maximum (Figure 24). Une telle baisse des quantités de sr-TBA a également été observée après 9 jours de conservation des sardines (*Sardina pichardus*) sous glace

Tableau XV Classements par analyse sensorielle et dosage des sr-TBA des échantillons de chair préparés à partir de chinchards conservés sous glace ou à 17°C. Des lettres différentes indiquent des résultats significativement différents.

Durée et mode de conservation	Classement par somme des rangs de l'analyse sensorielle	Classement des mesures de sr-TBA (mg Eq MDA/kg chair Pfrais)
T0 Glace	5 ^{bc}	4
6 heures Glace	7 ^{de}	5
12 heures Glace	3 ^a	1
24 heures Glace	1 ^a	2
36 heures Glace	2 ^a	3
48 heures Glace	4 ^{ab}	6
60 heures Glace	8 ^{ef}	9
72 heures Glace	6 ^d	7
T0 à 17°C	9 ^f	8
6 heures à 17°C	10 ^{fg}	11
12 heures à 17°C	11 ^g	12
24 heures à 17°C	12 ^g	10

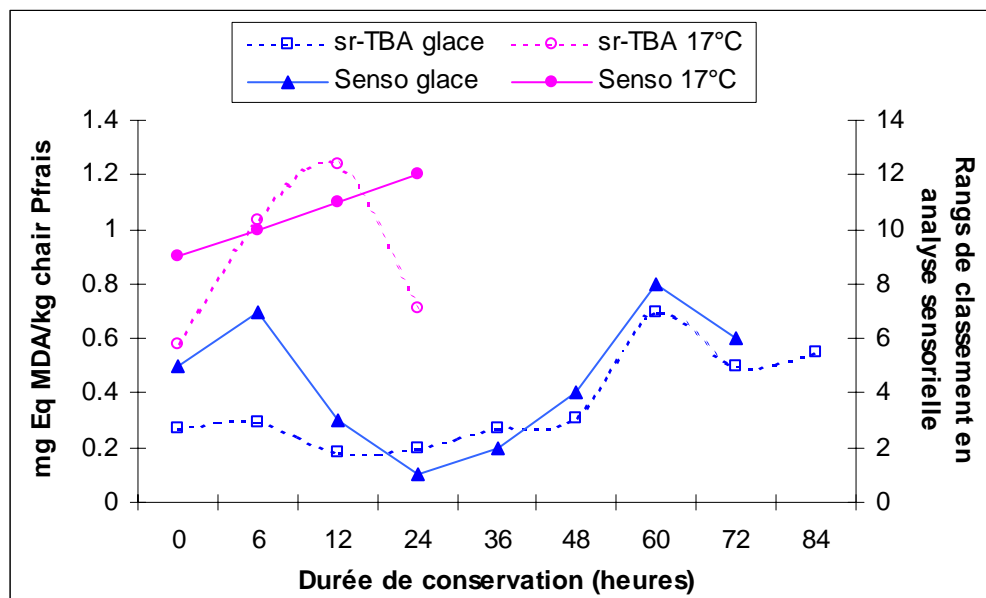


Figure 25 Comparaison des rangs de classement obtenus par analyse sensorielle et des concentrations en sr-TBA (mg Eq MDA /kg MH) mesurées au sein des muscles de chinchard conservés sous glace ou à 17°C,

(Nunes et coll., 1992 b) et 14 jours de conservation sous glace des filets de chinchard (*Trachurus trachurus*) (Aubourg, 2001 b). Par contre, aucune diminution des quantités de sr-TBA n'a été mise en évidence après 19 jours de conservation sous glace des chinchards entiers (Aubourg, 2001 b).

Les produits secondaires de l'oxydation des lipides interagiraient avec d'autres molécules, notamment les protéines, et/ou seraient dégradés en d'autres substances non accessibles au dosage, ce qui expliquerait alors l'infléchissement des valeurs de sr-TBA observé. Le dosage des sr-TBA est approprié à un suivi de l'oxydation des lipides dans des systèmes pour lesquels le T0 « réel » est caractérisé. Mais au vu de la forme en cloche de la courbe (Figure 25) il ne permet pas de déterminer ponctuellement le degré d'oxydation des lipides d'un produit. Cela illustre la difficulté à trouver un paramètre biochimique d'expression de la qualité.

II-3- Analyse sensorielle

Des échantillons des différentes durées de conservation des deux lots de chinchards ont été présentés simultanément à un jury d'analyse sensorielle (13 personnes) auquel il a été demandé de les classer selon l'intensité de l'odeur de rance perçue. Le rang 1 correspond à la plus faible intensité de rance perçue par le jury, le rang 12 correspondant à la plus forte. La somme des rangs a été calculée pour chacun des échantillons à partir des rangs de classement fournis par les différents membres du jury. Les sommes de rangs ainsi obtenues ont permis de déterminer un classement moyen des échantillons (Tableau XV).

L'étude statistique (test de Friedman) des rangs obtenus en analyse sensorielle indique qu'il n'y a pas de différence significative entre les sommes des rangs des échantillons conservés sous glace de 12 heures à 36 heures. Par contre, ces échantillons sont significativement différents de ceux prélevés au temps initial (T₀), 6 heures, 60 heures et 72 heures de conservation (Tableau XV). Les échantillons T₀ et 6 heures présentent un classement intermédiaire alors que des classements plus faibles étaient attendus. Dans l'ensemble, le classement des échantillons obtenu par l'analyse sensorielle concorde avec les valeurs de sr-TBA.

Pour les échantillons conservés à 17°C, les sommes des rangs obtenues à 6 et 24 heures ne sont pas significativement différentes, alors que l'étude ANOVA réalisée sur les valeurs de sr-

Tableau XVI Matrice des corrélations des variables d'après l'analyse en composantes principales.

	Lipides / kg Pf	Diènes	HpX / g lipide	HpX / kg MH	sr-TBA / g lipide	sr-TBA / kg MHR	Senso
Lipides / kg MH	1,00	0,36	-0,86	0,38	0,05	0,64	0,64
Diènes	0,35	1,00	-0,24	0,48	0,28	0,59	0,51
HpX / g lipide	-0,86	-0,24	1,00	-0,26	0,19	-0,48	-0,51
HpX / kg chair	0,37	0,48	-0,26	1,00	-0,12	0,29	0,31
sr-TBA / g lipide	0,05	0,28	0,19	-0,13	1,00	0,72	0,56
sr-TBA / kg chair	0,64	0,59	-0,48	0,29	0,72	1,00	0,83
Senso	0,64	0,51	-0,52	0,31	0,55	0,83	1,00

Tableau XVII Corrélation des variables avec les composantes 1 et 2 de l'ACP.

	Coord. Facteur 1	Coord. Facteur 2
Lipides / kg MH	0,82	0,42
Diènes	0,68	0,10
HpX / g lipide	-0,68	0,59
HpX / kg MH	0,48	0,38
sr-TBA / g lipide	0,45	-0,87
sr-TBA / kg MH	0,92	-0,32
Senso	0,89	-0,19

hpxkg = concentration en hydroperoxydes (mmoles Eq CuOOH/kg MH)

hpxg = concentration en hydroperoxydes (μ moles Eq CuOOH/g lipides)

lipides = teneur en lipides (g lipides/100g MH)

dien = concentration en dienes conjugués (A_{233nm}/A_{214nm})

tbakg = concentration en sr-TBA (mg Eq MDA/kg MH)

tbaglip = concentration en sr-TBA (μ g Eq MDA/g lipides)

senso = rangs de classement obtenus par analyse sensorielle

MH = matière humide

TBA montrait une augmentation significative (Tableau XIV). Il semblerait que pour des échantillons fortement altérés le classement des échantillons selon l'intensité de la perception de rance soit plus difficile, l'odeur de rance pouvant être masquée par d'autres odeurs d'altération (putride...). C'est notamment le cas pour l'échantillon conservé 24 heures à 17°C.

Le coefficient de Spearman = 0.92, indique une bonne corrélation entre l'analyse sensorielle et la méthode chimique (sr-TBA) de détermination du degré d'oxydation des lipides de chinchard. Les mêmes profils de courbes sont obtenus par l'analyse sensorielle ou par le dosage des sr-TBA. Deux groupes correspondant aux deux modes de conservation se distinguent (Figure 25). Les rangs obtenus en analyse sensorielle et par le dosage des sr-TBA au cours de la conservation à 17°C sont supérieurs à ceux obtenus au cours de la conservation sous glace. Les échantillons conservés à 17°C présentant les plus fortes teneurs en sr-TBA sont classés parmi les plus rances par le jury d'analyse sensorielle (Figure 25). L'échantillon conservé 24 heures à 17°C correspondant à l'inflexion de la courbe en cloche des sr-TBA apparaît comme le plus altéré pour le jury d'analyse sensorielle : la diminution de la teneur en sr-TBA observée à 72 heures de conservation sous glace correspond à une perception de rance plus faible par le jury d'analyse sensorielle (par rapport à l'échantillon conservé 60 heures).

Une analyse multivariée de type ACP normée a été réalisée afin de déterminer les corrélations entre les différentes mesures réalisées (biochimiques et sensorielle). Les matrices de corrélation obtenues par analyse en composantes principales (ACP) indiquent une bonne corrélation (0,83) entre les mesures de sr-TBA et l'analyse sensorielle (Tableau XVI). Les valeurs de diènes conjugués et les concentrations en hydroperoxydes, sont faiblement corrélés avec les autres mesures réalisées.

Sur la représentation graphique des composantes principale 1 et 2 de l'ACP les échantillons conservés à 17°C se distinguent de ceux conservés sous glace, sur la composante principale 1 (Figure 26). Cette composante principale est créée par les variables correspondant à la teneur en lipides (0.82), les valeurs de sr-TBA par kg (0.92) de chair et les rangs d'analyse sensorielle (0.89) (Tableau XVII). La séparation des deux lots est due aux différences de teneur en lipides deux lots mais également aux différences dans les valeurs de sr-TBA et les résultats d'analyse sensorielle. La composante principale 2 permet de distinguer les échantillons conservés sous glace de 0 à 36 heures de ceux conservés de 48 à 72 heures. Cette composante principale est déterminée essentiellement par les sr-TBA exprimés par g de lipides (-0.87) et les hydroperoxydes exprimés par g de lipides (0.59).

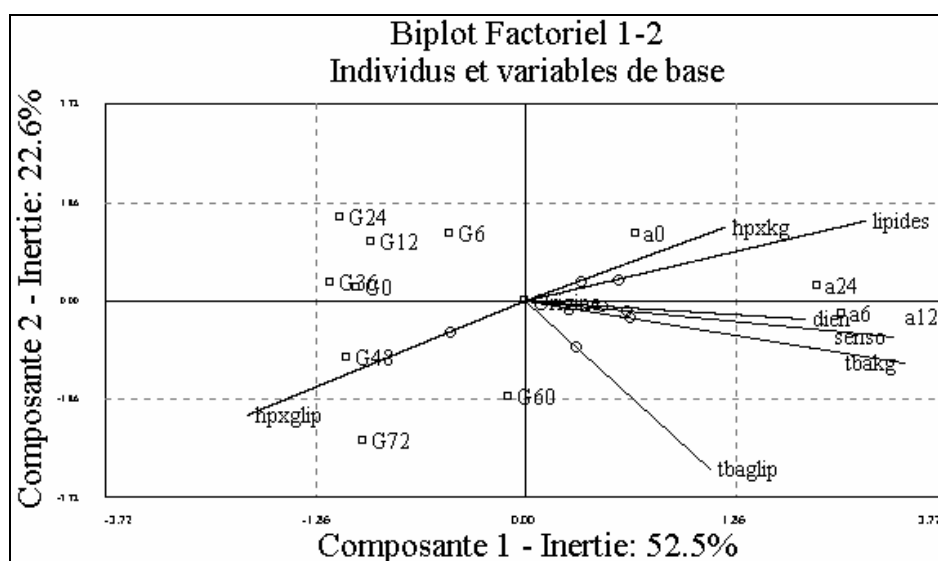


Figure 26 Représentation graphique simultanée des variables et des lots sur le plan 1-2 de l'ACP normée réalisée sur les variables biochimiques et sensorielles obtenues sur les différents échantillons de filets de chinchards prélevés sur des poissons conservés de 0 à 72 heures sous glace (G-) ou de 0 à 24 heures à 17°C (a-).
hpxkg = concentration en hydroperoxydes (mmoles Eq CuOOH/kg MH)
hpxg = concentration en hydroperoxydes (μ moles Eq CuOOH/g lipides)
lipides = teneur en lipides (g lipides/100g MH)
dien = concentration en dienes conjugués (A_{233nm}/A_{214nm})
tbakg = concentration en sr-TBA (mg Eq MDA/kg MH)
tbaglip = concentration en sr-TBA (μ g Eq MDA/g lipides)
senso = rangs de classement obtenus par analyse sensorielle

L'ensemble de ces résultats montrent que la mesure des sr-TBA et l'analyse sensorielle sont les méthodes les plus appropriées au suivi de l'oxydation des lipides au sein du muscle de chinchards.

L'analyse sensorielle est couramment utilisée pour déterminer l'état de fraîcheur des poissons. Elle est le plus souvent basée sur l'aspect visuel, l'odeur et la texture généralement déterminée après cuisson du poisson. Nos résultats montrent que le classement par analyse sensorielle de l'intensité d'odeur de rance perçue sur des échantillons crus est une méthode pertinente pour évaluer le degré d'altération des lipides de la chair de poisson. Les méthodes chimiques permettent de doser un composé ou un ensemble de composés particuliers, sans pour autant donner d'indication sur la perception et la qualité globale du produit par le consommateur. L'analyse sensorielle reste la méthode la plus sensible pour détecter la présence de nouveaux composés odorants dans une matrice alimentaire (York & Sereda, 1994).

III- CONCLUSION

Logiquement, la conservation des chinchards sous glace retarde le développement des réactions d'oxydation des lipides. Au cours de la conservation à 17°C, l'oxydation des lipides est très rapide : dès 6 heures de conservation, ce mode de conservation doit donc être évité. La conservation des poissons sous glace apparaît indispensable au maintien d'une bonne qualité. A la vue des résultats obtenus pour les concentrations en sr-TBA, qui augmentent après 36 heures de conservation, il est recommandé de ne pas dépasser ce délai de conservation sous glace. En effet, dès que les réactions d'oxydation des lipides sont amorcées elles s'amplifient très rapidement. Ainsi, dans le cas d'une transformation non immédiate des chinchards, il est indispensable de conserver les poissons sous glace, le délai de conservation ne devant pas dépasser 36 heures.

Au cours de la conservation sous glace, la formation des produits d'altération des lipides et les perceptions sensorielles évoluent différemment en fonction des espèces étudiées (Simeonidou et coll., 1998). Les sardines (*Sardina pilchardus*) conservent une bonne qualité durant deux jours de conservation sous glace. Entre 2 et 5 jours de conservation, la qualité est qualifiée d'acceptable et devient inacceptable au delà de 5 jours de conservation (Nunes et

coll, 1992 b). Les harengs (*Clupea harengus*) conservés sous glace présentent une augmentation des produits d'oxydation des lipides et l'apparition d'odeur de rance après 2,5 jours. Les concentrations en hydroperoxydes et en composés fluorescents sont corrélées à la perception d'odeur de rance (Undeland, 1999). Au cours de la conservation sous glace des filets de chinchards ou des chinchards entiers l'analyse sensorielle présente la meilleure corrélation avec les mesures de triméthylamine. Une bonne qualité, déterminée par analyse sensorielle, est maintenue jusqu'à 6 jours de stockage des filets et 9 jours de stockage des poissons entiers (Aubourg, 2001 b).

L'étude présentée dans ce chapitre a permis de mettre en évidence une bonne corrélation entre les résultats obtenus par mesure des produits secondaires de l'oxydation des lipides (sr-TBA) et par analyse sensorielle. En ce qui concerne cette dernière technique, il aurait été intéressant de compléter les mesures d'odeur par l'évaluation d'autres critères organoleptiques (couleur, texture). De plus, l'évaluation de l'acceptabilité de la chair par le jury aurait pu conduire à l'estimation d'une durée limite de conservation des poissons. Ces résultats pourraient également être complétés par l'analyse des composés volatils afin de déterminer les composés responsables de l'odeur de rance et de déterminer leur cinétique de formation. La technique de la micro-extraction en phase solide (SPME) couplée à la chromatographie en phase gazeuse, pourrait être testée à cet effet. Une étude récente portant sur la perception des odeurs des produits de la mer selon leur état de fraîcheur a permis de mettre en relation les odeurs de ces produits avec l'évolution des concentrations et de la nature des composés volatils (Prost et coll., 2002). Ces composés ont été analysés par espace de tête dynamique couplé à la chromatographie en phase gazeuse et à la spectrométrie de masse (GC/MS) pour la séparation et l'identification chimique des composés. Le pouvoir odorant des composés séparés a été déterminé par olfactométrie. Cette étude a montré qu'au cours de l'entreposage en glace, la sardine (*Sardina pilchardus*) perd progressivement ses caractéristiques d'odeur iodée pour acquérir des notes rances. Ces dernières ont notamment été attribuées à l'augmentation des concentrations en hexanal, Z-4-heptenal et 2,4-octadienal.

Cette étude a permis de valider les méthodes d'analyses mises en place au laboratoire. Il apparaît qu'une unique méthode biochimique n'est pas suffisante pour déterminer le degré d'oxydation des lipides et nécessite d'être complétée par d'autres techniques. L'association du dosage des sr-TBA, simple et rapide, avec l'analyse sensorielle, bien que plus difficile à mettre en oeuvre, est bien adaptée à la détermination du degré d'altération des lipides de

poisson. Selon la réglementation européenne, la détermination de la qualité des pélagiques est basée sur les concentrations en azote basique volatile totale/Triméthylamine (ABVT/TMA), sur des critères visuels de fraîcheur (peau, présence de mucus cutané, consistance de la chair, opercules, œil) et sur les analyses microbiologiques. Actuellement il n'existe pas de critères de qualité faisant intervenir la mesure du niveau d'oxydation des lipides. Pourtant les pélagiques contiennent de fortes teneurs en lipides polyinsaturés très sensibles aux réactions d'oxydation. De plus, les produits secondaires de l'oxydation des lipides sont responsables d'odeurs désagréables et sont susceptibles d'interagir avec d'autres molécules, notamment les protéines, induisant des modifications de texture et de couleur de la chair de poisson. Cependant, de part sa forme en cloche la mesure des sr-TBA est inappropriée pour être utilisée comme un indice de qualité.

L'étude présentée dans ce chapitre soulève les problèmes liés à l'échantillonnage pour déterminer les propriétés biochimiques d'un lot de poisson. Quel est le nombre d'individus qu'il est nécessaire d'analyser afin d'obtenir un indice de qualité représentatif de la qualité d'un lot de poisson ? En effet, l'étude de l'altération des pélagiques au cours de leur conservation est délicates du fait des fortes variations des propriétés biochimiques observées entre individus. Prélever dix individus au sein d'un même lot de poissons pêchés simultanément ne permet pas de s'affranchir de ces variations. Même en calibrant les individus il paraît difficile de disposer de lots homogènes de poissons. Des échantillonnages plus importants devraient être réalisés afin de limiter ces variations, mais des difficultés techniques risquent alors d'être rencontrées. Des études sur la détermination des indices de qualité des pélagiques devront être réalisées afin de disposer de procédures conduisant à des indices de qualité les plus représentatifs possible de la qualité du produit analysé. A une époque où les notions de qualité et traçabilité prennent de l'importance, les normes de qualité devront être actualisées aux nouvelles techniques disponibles et adaptées aux différentes matrices alimentaires.

CHAPITRE 3:
PROCEDE DE FABRICATION DU SURIMI DE CHINCHARD
DETERMINATION DES ETAPES CRITIQUES
IMPORTANCE DE LA QUALITE DE LA MATIERE PREMIERE

Le chapitre précédent a permis de mettre en évidence l'importance des conditions de conservation des chinchards sur le développement des réactions d'oxydation des lipides. Ces réactions en chaîne, une fois amorcées, s'amplifient très fortement. Elles induisent une dégradation des propriétés chimiques et sensorielles de la chair des poissons. Il est donc indispensable de déterminer les conditions de transformation des poissons favorables à ces réactions afin de pouvoir les contrôler.

L'objectif final de ce travail est d'optimiser le procédé de fabrication du surimi à partir de petits pélagiques afin d'obtenir un produit alimentaire intermédiaire permettant la fabrication de préparations alimentaires de qualité. Pour cela, il est nécessaire de limiter au maximum les réactions conduisant à l'altération du produit, en particulier celles résultant de l'oxydation des lipides, au cours de la fabrication.

Dans un premier temps, il s'agissait d'identifier les étapes critiques du procédé afin de les améliorer par des moyens techniques (optimisation de la chaîne de transformation) ou relevant de la qualité et de la formulation des matières premières (optimisation de la formulation, ajout d'additifs tels que les antioxydants). Des prélèvements ont donc été réalisés après chaque étape de transformation afin de déterminer les étapes sensibles du procédé vis à vis de l'altération des lipides.

L'impact de la qualité biochimique de la matière première sur celle du produit fini a également été étudié. Pour cela, du surimi de chinchards a été préparé, sur la chaîne pilote de transformation de l'IFREMER, à partir de deux lots de chinchards. Le premier lot (lot C), transformé en juillet 2001, a été obtenu directement au retour des pêcheurs au port de La Turballe. La conservation sous glace des poissons n'a pas excédé 6 heures. Les chinchards de ce lot C sont qualifiés de « chinchards frais ». Pour le deuxième lot (lot D), obtenu en février 2002 auprès d'une société de mareyage (*Pêcheries Océanes, Saint Gilles Croix de Vie*), les

chinchards ont été conservés sous glace en chambre froide pendant 24 heures après réception au laboratoire. A leur arrivée au laboratoire, ces poissons avaient déjà plus de 12 heures de conservation sous glace depuis leur capture. Les chinchards de ce lot D sont qualifiés de « chinchards conservés 36 heures sous glace ». Cette durée de conservation (36 heures) correspond à la durée limite de conservation sous glace déterminée dans le chapitre précédent.

Tableau XVIII Comparaison teneurs en eau, en lipides et en phospholipides des chinchards frais (lot C) et conservés 36 heures sous glace (lot D). Pour une même analyse, des lettres différentes indiquent des résultats significativement différents, $p < 0.05$. (n=3).

Chinchards	Teneur en eau (g/100g MH)	Teneur en lipides (g/100g MH)	Concentration en phospholipides		
			(g/100g lipides)	(g/100g MH)	(g/100g MS)
Lot C	76,3 ± 0,1 ^a	4,9 ± 0,1 ^a	11,3 ± 0,2 ^a	0,55 ± 0,01 ^a	2,3 ± 0,1 ^a
Lot D	79,0 ± 0,1 ^b	2,1 ± 0,1 ^b	10,1 ± 1,7 ^a	0,21 ± 0,04 ^b	0,9 ± 0,1 ^b

Tableau XIX Composition en acides gras (g/100 g acides gras totaux) des chinchards (*Trachurus trachurus*) du lot C et du surimi obtenu à partir de ces poissons. Pour une même analyse, des lettres différentes indiquent des résultats significativement différents, $p < 0.05$. (n=3).

Acides gras (%)	Filets	Surimi
C14 :0	5,5 ± 0,5	6,0 ± 0,8
C16 :0	25 ± 0,8	24,1 ± 1,2
C18 :0	7,4 ± 0,7	7,4 ± 0,1
Σ Saturés	37,9 ± 0,4	37,6 ± 0,8
C16:1 ω7	7,8 ± 0,3	5,1 ± 0,1
C18:1 ω9	22,6 ± 0,7	15,7 ± 1,4
C18:1 ω6	9,7 ± 0,4	7,8 ± 0,5
Σ Monoinsaturés	40,1 ± 0,7	28,6 ± 1,1
C18:2 ω6	0,8 ± 0,1	1,0 ± 0,1
C18:3 ω3	0,5 ± 0,1	0,7 ± 0,2
C18:4 ω3	3,2 ± 0,5	5,7 ± 1,0
C20:3 ω3	0,6 ± 0,1	0,9 ± 0,1
C20:4 ω3	0,7 ± 0,03	4,8 ± 0,6
C20:5 ω3	5,8 ± 0,2	6,3 ± 0,2
C22:5 ω3	1,2 ± 0,1	1,3 ± 0,2
C22:6 ω3	9,1 ± 0,04	13,1 ± 1,1
Σ Polyinsaturés	22,0 ± 0,8	33,8 ± 1,9

I- RESULTATS: EVOLUTION DE LA COMPOSITION BIOCHIMIQUE DES PRODUITS ET DU NIVEAU D'OXYDATION DES LIPIDES AU COURS DE LA TRANSFORMATION DES CHINCHARDS EN SURIMI

Les résultats des déterminations quantitatives des paramètres biochimiques sont exprimés par kg d'échantillon afin de mettre en évidence la qualité globale des échantillons et par g de lipides pour déterminer le degré d'oxydation des lipides.

Il est à noter que les prélèvements réalisés étaient très hétérogènes dans la mesure où il s'agit, selon les cas d'échantillons liquides, solides ou semi-liquides. De plus, le suivi quantitatif des différents constituants biochimiques au cours du procédé (calcul des rendements de transformation) est très difficile du fait des pertes et gains en matière sèche (MS) et en eau lors des différentes étapes. La matrice évolue en permanence du fait de la transformation et des incorporations et éliminations d'eau.

I-1- Caractérisation biochimique des matières premières

I-1-1- Teneur en eau et en lipides

La teneur en eau des filets de chinchards frais, 76,3 g/100 g chair, est inférieure à celle des filets prélevés sur les chinchards du lot D, 79,0 g/100 g chair (Tableau XVIII). Inversement, la teneur en lipides des filets de chinchards frais, 4,9 g/100 g chair MH, est nettement supérieure à celle des filets du lot D, 2,1 g/100 g chair MH (Tableau XVIII).

Les teneurs en phospholipides des lipides totaux, 10,1-11,3 g eq PC/100 g lipides, sont similaires pour les deux lots de chinchards (Tableau XVIII). Les concentrations en phospholipides exprimées pour 100 g de muscle de chinchards MH ou MS sont deux fois plus élevées pour le lot de chinchards frais comparé au lot D.

La composition en acides gras des lipides totaux des filets de chinchards frais est identique à celle obtenue précédemment (Tableau XI). La proportion d'acides gras saturés est de 37,9 g/100 g acides gras totaux (Tableau XIX). Les acides gras monoinsaturés représentent 40,1 % des acides gras totaux tandis que les acides gras polyinsaturés sont minoritaires avec

Tableau XX Comparaison teneurs en eau, en lipides et en phospholipides des chinchards frais (lot C) et conservés 36 heures sous glace (lot D). Pour une même analyse, des lettres différentes indiquent des résultats significativement différents, $p < 0.05$. (n=3).

Chinchards	Teneur en eau (g/100g MH)	Teneur en lipides (g/100g MH)	Concentration en phospholipides		
			(g/100g lipides)	(g/100g MH)	(g/100g MS)
Lot C	76,3 ± 0,1 ^a	4,9 ± 0,1 ^a	11,3 ± 0,2 ^a	0,55 ± 0,01 ^a	2,3 ± 0,1 ^a
Lot D	79,0 ± 0,1 ^b	2,1 ± 0,1 ^b	10,1 ± 1,7 ^a	0,21 ± 0,04 ^b	0,9 ± 0,1 ^b

Tableau XXI Teneurs en eau et en lipides des différents échantillons prélevés au cours de la fabrication de surimi à partir de chinchards « Frais » (lot C) et de chinchards conservés 36 heures sous glace (lot D). (n=3). Pour une même analyse, des lettres différentes indiquent des résultats significativement différents, $p < 0.05$

-Lot C-		Chinchards « frais »		
	Teneur en eau (g/100g)	Teneurs en lipides		
		(g/100g MH)	(g/100g MS)	
0-Filets	76,3 ± 0,1 ^a	4,9 ± 0,1 ⁱ	20,5 ± 1,8 ^h	
1-Chair	77,2 ± 0,1 ^b	3,6 ± 0,13 ^h	15,8 ± 0,5 ^g	
2-Chair lavée	94,9 ± 0,7 ^{fg}	1,0 ± 0,01 ^e	19,6 ± 0,3 ^h	
3-Chair tamisée	95,4 ± 0,3 ^g	0,6 ± 0,01 ^c	13,8 ± 0,7 ^f	
4-Eau d'essorage	98,2 ± 0,03 ^h	0,4 ± 0,2 ^{abc}	20,4 ± 10,2 ^{defgh}	
5-Pâte	81,7 ± 0,1 ^d	1,2 ± 0,04 ^f	6,7 ± 0,3 ^c	
6-Surimi	76,8 ± 0,1 ^a	1,0 ± 0,1 ^{de}	4,4 ± 0,4 ^{ab}	

-Lot D-		Chinchards conservés 36 h sous glace		
	Teneur en eau (g/100g)	Teneurs en lipides		
		(g/100g MH)	(g/100g MS)	
0-Filets	79,0 ± 0,1 ^c	2,1 ± 0,1 ^g	9,4 ± 1,8 ^d	
1-Chair	79,3 ± 0,3 ^c	1,5 ± 0,2 ^f	7,4 ± 0,9 ^c	
2-Chair lavée	95,8 ± 0,3 ^g	0,6 ± 0,1 ^{bc}	13,9 ± 1,3 ^e	
3-Chair tamisée	95,9 ± 1,0 ^g	0,5 ± 0,1 ^b	11,7 ± 2,1 ^{de}	
4-Eau d'essorage	98,5 ± 0,0 ⁱ	0,2 ± 0,0 ^a	13,7 ± 1,6 ^{de}	
5-Pâte	83,0 ± 0,5 ^e	0,9 ± 0,1 ^{de}	5,1 ± 0,4 ^b	
6-Surimi	76,9 ± 0,1 ^a	0,9 ± 0,0 ^d	3,9 ± 0,1 ^a	

une proportion de 22 g/100 g d'acides gras totaux. La composition en acides gras du lot D n'a pas été déterminée.

I-1-2- Niveau d'oxydation des lipides

Les concentrations en produits primaires, diènes conjugués et hydroperoxydes, et secondaires (sr-TBA) de l'oxydation des lipides ont été déterminées sur les filets de chinchards avant leur transformation. Pour cela, une dizaine de poissons ont été pelés manuellement et leur chair hachée dans un hachoir ménager.

Les valeurs de diènes, mesurées pour les extraits lipidiques de chacun des lots de chinchards ne sont pas significativement différentes (Tableau XX). Par contre, pour les concentrations en hydroperoxydes exprimées par g de lipides, les valeurs obtenues pour les chinchards du lot D sont près d'une fois et demi fois plus élevées que celles des chinchards frais (Tableau XX). Or, si ce lot D a une teneur plus élevée en hydroperoxydes (μ moles/g lipides), il a aussi deux fois moins de lipides totaux que le lot de chinchards frais, ce qui explique sa plus faible concentration en hydroperoxydes lorsqu'elle est exprimée par kg de MH. De même, la concentration en sr-TBA exprimées par kg MH est la plus élevée dans le lot C, mais c'est la plus faible si la concentration est exprimée par g de lipides (Tableau XX).

I-2- Evolution biochimique des produits et de l'oxydation des lipides au cours du procédé de fabrication du surimi

I-2-1- Teneur en eau et en lipides

Les deux lots qui se différencieraient initialement par leur teneur en eau, atteignent une même valeur d'environ 95 % d'eau, après l'étape de lavage (Tableau XXI). Les teneurs en eau des surimis, 76,8 %, obtenues à partir des deux matières premières sont identiques.

A l'issue de la transformation, les teneurs en lipides ont diminué fortement (Tableau XXI). La teneur en lipides de la chair des chinchards frais est de 3,6 g/100 g MH, celle du

Tableau XXII Teneurs en phospholipides des différents échantillons prélevés au cours de la fabrication de surimi à partir de chinchards « Frais » (lot C) et conservés 36 heures sous glace (lot D). Des lettres différentes dans une même colonne indiquent des résultats significativement différents, $p < 0.05$. (n=3).

-Lot C-	Chinchards «frais»		
	(g/100g lipides)	(g/100g éch MH)	(g/100g éch MS)
0-Filets	11,3 ± 0,2 b	0,55 ± 0,01 h	2.3 ± 0.1 d
1-Chair	14,0 ± 0,3 c	0,50 ± 0,01 g	2.2 ± 0.1 d
2-Chair lavée	13,4 ± 1,1 cd	0,13 ± 0,01 d	2.6 ± 0.2 d
3-Chair tamisée	11,1 ± 1,2 ab	0,07 ± 0,01 c	1.5 ± 0.2 c
4-Eau d' essorage	12,1 ± 4,2 ab	0,05 ± 0,02 bc	2.5 ± 0.8 cd
5-Pâte	19,2 ± 1,8 e	0,23 ± 0,02 ef	1.3 ± 0.1 bc
6-Surimi	20,8 ± 1,1 e	0,21 ± 0,01 e	0.9 ± 0.1 a

-Lot D-	Chinchards conservés 36 heures sous glace		
	(g/100g lipides)	(g/100g éch MH)	(g/100g éch MS)
0-Filets	10,1 ± 1,7 ab	0,21 ± 0,04 e	0,9 ± 0,1 ab
1-Chair	15,5 ± 1,9 d	0,23 ± 0,13 ef	1,2 ± 0,2 b
2-Chair lavée	11,3 ± 1,4 ab	0,05 ± 0,01 c	1.5 ± 0.3 c
3-Chair tamisée	8,7 ± 1,0 a	0,04 ± 0,01 b	0.9 ± 0.3 ab
4-Eau d' essorage	8,3 ± 2,5 a	0,02 ± 0,00 a	1.1 ± 0.3 abc
5-Pâte	27,9 ± 0,8 f	0,25 ± 0,01 f	1.4 ± 0.1 c
6-Surimi	28,5 ± 0,8 f	0,26 ± 0,01 f	1.1 ± 0.0 b

surimi est de 1,0 g/100 g MH. Au cours de la transformation des chinchards du lot D, la teneur en lipides passe de 1,5 g/100 g MH dans la chair à 0,9 g/100 g MH dans le surimi. Bien que les teneurs en lipides des deux lots de chinchards soient différentes, la teneur en lipides des deux surimis obtenus sont identiques. La proportion de lipides éliminés au cours de la transformation a été plus importante pour le lot C par rapport au lot D.

La comparaison des teneurs en lipides de la chair broyée (1) et de la chair lavée (2), exprimée par kg de MS, indique un phénomène de concentration des lipides après l'étape de lavage. En effet, les concentrations en lipides, exprimées par rapport à la matière sèche, sont plus élevées pour la chair lavée (2) par rapport à la chair (1) obtenue à l'étape précédente. Du fait de sa forte teneur en eau, la chair lavée contient seulement 1,0 g de lipides/100 g d'échantillon MH pour la transformation du lot C et 0,6 g de lipides/100 g d'échantillon MH pour celle du lot D (Tableau XXI).

L'étape de tamisage conduit à une réduction de la teneur en lipides uniquement pour le lot C. En effet, il n'y a pas de différence significative entre la teneur en lipides de la chair lavée et celle de la chair tamisée pour le lot D (Tableau XXI). Par contre, pour le lot C, la teneur en lipides de la chair lavée est supérieure à celle de la chair tamisée (Tableau XXI).

La teneur en lipides de l'eau (4), obtenue après la dernière étape d'essorage, est faible, 0,2 à 0,4 g/100g MH. Cependant elle représente entre 14 et 20 % de la matière sèche (Tableau XXI).

Les teneurs en phospholipides des échantillons fluctuent au cours de la transformation pour arriver à un surimi qui en contient environ 1 g/100g MS (Tableau XXII). Simultanément, il se produit une concentration des phospholipides parmi les lipides totaux. Ils représentent 14 et 15,5 % des lipides totaux (LT) dans la chair (produit de départ) et atteignent 20,8 et 28,5 % des LT dans le surimi préparé à partir des lots A et B respectivement (Tableau XXII). Des valeurs comparables sont obtenues dans la pâte.

Les lipides totaux extraits du surimi préparé à partir du lot C contiennent 37,6 % d'acides gras saturés (g/100 g AG totaux), valeur très proche de celle obtenue pour les filets initiaux (Tableau XIX). La proportion d'acides gras polyinsaturés est nettement plus élevée dans le surimi que dans les filets, tandis que la proportion d'acides gras monoinsaturés est la plus élevée pour les filets (Tableau XIX). Ainsi, dans le surimi les acides gras monoinsaturés représentent 28,6 % (p/p) des acides gras totaux.

Tableau XXIII Teneurs en produits primaires de l'oxydation des lipides, diènes conjugués et hydroperoxydes (Eq CuOOH), des échantillons prélevés au cours de la fabrication de surimi à partir de chinchards « Frais » (lot C) et à partir de chinchards conservés 36 heures sous glace (lot D). Pour un même mode expression des résultats (colonnes), des lettres différentes indiquent des résultats significativement différents, $p < 0.05$. (n=3).

-Lot C-		Chinchards « frais »		
	Indice Diènes	Concentrations en hydroperoxydes		
	[A ₂₃₃ /A ₂₁₄]	(mmoles/kg MH)	(mmoles/kg MS)	(μmoles/g lipides)
0-Filets	0,21 ± 0,01 c	0,75 ± 0,1 g	3,16 ± 0,4 bc	15,3 ± 2,1 a
1-Chair	0,18 ± 0,01 a	0,55 ± 0,1 efg	2,41 ± 0,4 b	15,3 ± 2,8 a
2-Chair lavée	0,27 ± 0,01 e	0,20 ± 0,03 b	3,89 ± 0,6 c	16,6 ± 2,8 a
3-Chair tamisée	0,20 ± 0,02 abc	0,18 ± 0,03 b	3,99 ± 0,7 c	29,6 ± 2,8 c
4-Eau d'essorage	0,40 ± 0,08 def	0,28 ± 0,02 cde	15,8 ± 0,9 e	76,9 ± 4,7 f
5-Pâte	0,21 ± 0,01 c	0,22 ± 0,03 bc	1,15 ± 0,2 a	17,1 ± 4,5 a
6-Surimi	0,21 ± 0,01 c	0,28 ± 0,04 cde	1,21 ± 0,2 a	27,3 ± 3,8 bc

-Lot D-		Chinchards conservés 36 heures sous glace		
	Indice Diènes	Concentrations en hydroperoxydes		
	[A ₂₃₃ /A ₂₁₄]	(mmoles/kg MH)	(mmoles/kg MS)	(μmoles/g lipides)
0-Filets	0,19 ± 0,02 abc	0,55 ± 0,02 f	2,6 ± 0,1 b	26,1 ± 1,1 b
1-Chair	0,19 ± 0,01 b	0,56 ± 0,04 f	2,7 ± 0,2 b	37,2 ± 2,7 d
2-Chair lavée	0,25 ± 0,01 d	0,12 ± 0,02 a	2,83 ± 0,4 b	20,2 ± 2,9 b
3-Chair tamisée	0,26 ± 0,02 de	0,24 ± 0,02 bc	5,9 ± 0,7 d	50,6 ± 6,1 e
4-Eau d'essorage	0,35 ± 0,01 f	0,28 ± 0,01 d	18,4 ± 0,6 f	137,8 ± 4 g
5-Pâte	0,34 ± 0,02 f	0,25 ± 0,03 cd	1,5 ± 0,2 a	29,7 ± 3,5 c
6-Surimi	0,34 ± 0,03 f	0,35 ± 0,04 e	1,5 ± 0,2 a	38,5 ± 4,4 d

I-2-2- Produits d'oxydation des lipides

Produits primaires de l'oxydation

Pour les deux lots de chinchards, la transformation de la chair en surimi provoque une augmentation de l'indice de diènes conjugués. Les valeurs de diènes conjugués les plus élevées sont obtenues pour l'eau de lavage en sortie d'essoreuse centrifuge (4). Dans les produits intermédiaires, une augmentation significative des valeurs de diènes conjugués est observée pour la chair lavée (2). Puis, les valeurs mesurées pour les prélèvements suivants, hormis pour l'eau en sortie d'essoreuse centrifuge (4), sont plus faibles dans le cas du lot C tandis qu'elles augmentent au cours de la transformation des chinchards du lot D. Dans les deux cas, les valeurs de diènes conjugués sont identiques pour la pâte et le surimi. Cependant, elles sont plus élevées pour la transformation du lot D (0,34) par rapport à celle du lot C (0,21) (Tableau XXIII).

Les concentrations en hydroperoxydes, exprimées par g de lipides, sont systématiquement plus élevées pour les prélèvements issus de la transformation du lot D (Tableau XXIII). Les concentrations en hydroperoxydes, qu'elles soient exprimées par kg de matière sèche ou par g de lipides, sont particulièrement élevées dans les eaux de lavage en sortie d'essoreuse centrifuge (4) pour les deux lots (Tableau XXIII). Par contre, parmi les produits intermédiaires, c'est la chair tamisée qui présente la concentration en hydroperoxydes la plus élevée, que ce soit pour le lot D, 50,6 $\mu\text{moles Eq CuOOH} / \text{g lipides}$, ou pour le lot C, 29,6 $\mu\text{moles Eq CuOOH} / \text{g lipides}$. (Tableau XXIII). La concentration en hydroperoxyde, exprimée par g de lipides, diminue d'un facteur 1,7 entre la chair tamisée (3) et la pâte (5) pour les deux lots. Elle est plus élevée dans le surimi que dans la pâte, pour les deux lots. Les concentrations en hydroperoxydes les plus élevées, exprimées par kg de matière humide, sont obtenues sur la chair (1) issue de la séparation mécanique des filets, 0,55 et 0,56 $\text{mmoles Eq CuOOH/kg MH}$, pour les lots A et B respectivement (Tableau XXIII). En fin de procédé, c'est le surimi préparé à partir du lot D qui a la teneur la plus élevée en hydroperoxydes, 0,35 $\text{mmoles Eq CuOOH/kg MH}$, le surimi du lot C n'atteignant que 0,28 $\text{mmoles Eq CuOOH/kg MH}$ (Tableau XXIII).

Les concentrations en hydroperoxydes, exprimées par kg de matière sèche, les plus importantes sont obtenues dans la chair tamisée, 4 et 6 $\text{mmoles Eq CuOOH/kg MS}$ et la chair

Tableau XXIV Concentrations en produits secondaires de l'oxydation des lipides : sr-TBA (Eq MDA), des différents échantillons prélevés au cours de la fabrication de surimi à partir de chinchards « Frais » (Lot C) et conservés 36 heures sous glace (Lot D). Des lettres différentes indiquent des résultats significativement différents, $p < 0.05$. (n=5).

-Lot C-	Chinchards « frais »		
	Concentrations en sr-TBA		
	(mg/kg MH)	(mg/kg MS)	(μ g/g lipides)
0-Filets	0,41 \pm 0,05 c	1,7 \pm *0,2 c	8,4 \pm 1 b
1-Chair	0,10 \pm 0,04 a	0,4 \pm 0,2 a	2,7 \pm 1 a
2-Chair lavée	0,48 \pm 0,03 c	9,4 \pm 0,5 e	40,4 \pm 2 f
3-Chair tamisée	1,50 \pm 0,05 d	32,8 \pm 0,9 g	243,1 \pm 7 h
4-Eau d'essorage	1,77 \pm 0,03 f	98,5 \pm 1,7 j	479,3 \pm 8 i
5-Pâte	0,24 \pm 0,02 b	1,3 \pm 0,1 b	19,5 \pm 1 d
6-Surimi	0,46 \pm 0,01 c	1,9 \pm 0,0 c	44,2 \pm 1 f

-Lot D-	Chinchards conservés 36 heures sous glace		
	Concentrations en sr-TBA		
	(mg/kg MH)	(mg/kg MS)	(μ g/g lipides)
0-Filets	0,28 \pm 0,01 b	1,3 \pm 0,2 b	12,3 \pm 1 c
1-Chair	0,53 \pm 0,09 c	2,5 \pm 0,4 c	35,2 \pm 6 e
2-Chair lavée	1,57 \pm 0,09 d	37,3 \pm 2 h	265,3 \pm 14 h
3-Chair tamisée	2,44 \pm 0,19 h	59,4 \pm 4,6 i	507,5 \pm 39 i
4-Eau d'essorage	2,08 \pm 0,04 g	138,7 \pm 2,9 k	990,9 \pm 21 j
5-Pâte	2,21 \pm 0,14 h	13,1 \pm 0,8 f	245,9 \pm 15 h
6-Surimi	1,76 \pm 0,10 f	7,6 \pm 0,4 d	195,2 \pm 11 g

lavée, 4 et 3 mmoles Eq CuOOH/kg MS, pour les lots de chinchards A et B respectivement. Les concentrations en hydroperoxydes, exprimées par kg de MS, sont similaires pour la pâte et le surimi obtenus lors des deux transformations.

Produits secondaires d'oxydation (sr-TBA)

Dès la première étape de transformation ainsi que lors des étapes suivantes, les concentrations en sr-TBA, exprimées par g de lipides, sont systématiquement les plus élevées dans le cas de la transformation du lot D (Tableau XXIV). Quels que soient la fabrication et le mode d'expression des résultats, les concentrations en sr-TBA augmentent au cours des étapes de transformation (2) et (3). La concentration en sr-TBA la plus élevée est obtenue pour l'eau de lavage en sortie d'essoreuse centrifuge (Tableau XXIV). Pour les produits intermédiaires, c'est dans la chair tamisée que les concentrations en sr-TBA, exprimées par kg de MS ou par rapport aux lipides totaux, sont les plus élevées. Les concentrations en sr-TBA, exprimées par kg de MS, sont 15 à 20 fois plus élevées dans la chair lavée (2) que dans la chair récupérée après séparation mécanique (1) (Tableau XXIV). Ces concentrations sont augmentées d'un facteur, 1,6 et 3,5 entre les étapes (2) et (3) de la transformation du lot D et de celle du lot C respectivement. Elles sont 25 fois plus faibles pour la pâte obtenue à partir du lot C par rapport à la chair tamisée issue de ce même lot. Par contre, cette diminution est seulement d'un facteur 4,5 entre la pâte et la chair tamisée de la transformation du lot D. Les concentrations en sr-TBA de la pâte et du surimi obtenus à partir du lot C sont inférieures à celles de ces mêmes échantillons préparés à partir du lot D.

II- DISCUSSION: IDENTIFICATION DES ETAPES CRITIQUES DU PROCEDE DE FABRICATION DU SURIMI DE CHINCHARDS

II-1- Deux lots de matière première aux caractéristiques biochimiques différentes

II-1-1- Teneurs en lipides et en phospholipides des lots de chinchards

Le premier lot de chinchards (lot C) correspond à des poissons relativement gras pêchés au mois de juillet. Leurs filets contiennent près de 5 g/100 g MH, de lipides totaux et environ 76 % d'eau. Le deuxième lot (lot D), pêché au mois de février, est constitué

de chinchards plus maigres, environ 2 g de lipides totaux/100 g MH et 79 % d'eau. Ces différences sont liées aux variations saisonnières de la composition biochimique des chinchards. En effet, en février, les muscles de chinchards contiennent de faibles concentrations en lipides tandis que celles mesurées au mois de juillet sont élevées (Figure 5; Bandarra et coll., 2001). Comme les observations réalisées lors du chapitre précédent et en accord avec la littérature, la teneur en eau des muscles varie de façon inverse à leur teneur en lipides.

Les proportions de phospholipides dans les lipides totaux des deux lots de chinchards ne sont pas significativement différentes.

Les concentrations en phospholipides, exprimées pour 100 g de MH ou de MS, des filets de chinchards frais pêchés en juillet (0,55 g/100 g MH et 2,3 g/100 g MS) sont supérieures à celles obtenues pour les filets des chinchards du lot D pêché en février (0,21 g/100 g MH et 0,9 g/100 g MS). Les résultats obtenus précédemment sur des chinchards pêchés au mois de novembre (Tableau IX & X) montraient que les concentrations en phospholipides, exprimées pour 100 g de MH, étaient similaires (0,5 g/100 g MH) pour des teneurs en lipides variant de 3,6 à 10,4 g/100 g MH. Ces résultats semblent indiquer, en accord avec Bandarra et coll. (2001), que les quantités de phospholipides dans les muscles de chinchards varient en fonction des saisons. Par contre, pour des poissons pêchés à la même saison, la teneur en phospholipides du muscle reste constante même si la teneur en lipides totaux est différente. Les variations saisonnières des teneurs en phospholipides des muscles de chinchards sont plus fortement marquées lorsque le poisson a une teneur en lipides inférieure à 3 g/100 g de muscle. Les concentrations en phospholipides du muscle de chinchard varient peu pour des teneurs en lipides comprise entre 4 à 10 % (Figure 5).

La composition en acides gras des filets du lot de chinchards frais est similaire à celle déterminée précédemment sur les filets de chinchards capturés en novembre (Chapitre 2). Cependant, la proportion d'acides gras monoinsaturés est relativement élevée, 40 % contre 33 % précédemment et celle d'acides gras polyinsaturés est faible, 22 % contre 30 % précédemment. Ces variations des proportions en acides gras peuvent résulter de nombreux facteurs (saison, alimentation...). De plus nous avons montré (Chapitre 1) que les comparaisons entre lots et même entre prélèvements au sein d'un même lot sont rendues difficiles du fait des variations de composition biochimique interindividuelles.

II-1-2- Des niveaux d'oxydation des lipides différents dans la matière première selon sa durée de conservation

Nous avons montré précédemment, (Chapitre 1) que la conservation des chinchards sous glace pendant 48 heures au maximum permet de limiter le développement de l'oxydation des lipides et donc d'avoir un matière première de bonne qualité.

Dans les filets préparés à partir des deux lots de chinchards, les concentrations en diènes conjugués sont identiques tandis que la concentration en hydroperoxydes, exprimée par g de lipides, est plus élevée dans le lot D. (Tableau XXIII). En accord avec les résultats présentés chapitre 1, ce résultat confirme la plus grande sensibilité de la mesure des hydroperoxydes à détecter les différents niveaux d'oxydation des lipides de chinchards par comparaison à la détermination des diènes conjugués.

Comme les teneurs en lipides sont plus importantes pour le lot C, les quantités d'hydroperoxydes, exprimées par kg de chair MH et MS sont plus importantes que dans le lot D. De la même façon, les quantités de sr-TBA rapportées aux lipides totaux, sont plus importantes dans les filets du lot D tandis que l'inverse est observé quand les données sont rapportées à la matière humide (MH) et à la matière sèche (MS) des filets. Ces résultats soulignent l'intérêt d'exprimer les résultats selon différents modes. Le mode d'expression par kg d'échantillon paraît appropriée pour évaluer la qualité globale du produit. Le mode d'expression par g de lipides permet de caractériser le degré d'oxydation des lipides. Ce paramètre est indispensable dans la mesure où les lipides représentent le substrat privilégié des réactions d'oxydation. De plus, au cours du chapitre précédent il a été montré que pour des lots de chinchards différents, les mesures des produits d'oxydation des lipides au temps initial (T_0) pouvaient être différentes (Tableau XIII & XIV).

Les deux lots de chinchards utilisés pour fabriquer le surimi présentent des propriétés biochimiques différentes. La teneur en lipides des chinchards frais est la plus élevée et les lipides y sont moins oxydés que dans les chinchards du lot conservé 36 heures sous glace.

II-2- Les étapes de fabrication du surimi conditionnent la qualité du produit

Le surimi est un produit alimentaire qui doit présenter un goût et une odeur relativement neutre. Il doit posséder une couleur claire (la plus blanche possible) et une bonne

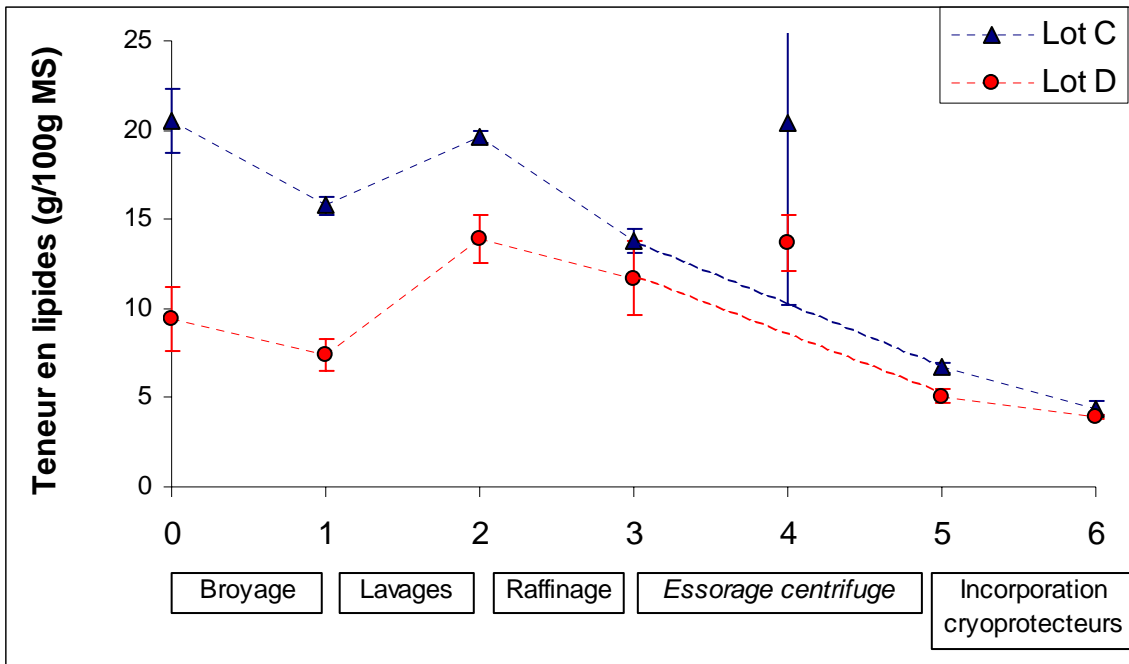


Figure 27 Evolution des teneurs en lipides (g / 100gMS) au cours des étapes du procédé de fabrication du surimi de chinchard. Les chiffres de l'axe des abscisses correspondent aux différents prélèvements : (0) filets, (1) chair, (2) chair lavée, (3) chair tamisée, (4) eau d'essorage, (5) pâte, (6) surimi.

capacité à former un gel. Les poissons gras présentent de fortes proportions de lipides très sensibles aux réactions d'oxydation. Or ces réactions conduisent à la formation de composés volatils responsables d'odeurs désagréables et de produits secondaires susceptibles d'interagir avec les protéines modifiant ainsi la texture et la capacité de gélification du surimi. Il est donc indispensable d'identifier les étapes au niveau desquelles se produisent ces réactions afin de pouvoir les contrôler et obtenir un surimi de qualité.

II-2-1- Élimination des lipides au cours du procédé

Une forte proportion des lipides de la matière première est éliminée au cours du procédé de transformation. Quelle que soit la teneur en lipides de la matière première, les teneurs en lipides du surimi sont identiques (Tableau XXI).

Dès l'étape (1) de broyage des filets, une partie des lipides est éliminée (Figure 27). Les teneurs en lipides de la chair en sortie de séparateur mécanique sont en effet inférieures à celles mesurées dans les filets préparés manuellement. Ces différences s'expliquent par les procédés d'obtention de la chair. Lorsque les filets sont pelés manuellement, seule la couche épidermique est retirée. Lors du passage dans le séparateur mécanique, le pelage est plus grossier. La couche lipidique sous cutanée et une partie du muscle rouge sont alors éliminées avec les déchets de peau. Or ces parties du filet sont particulièrement riches en lipides (Undeland, 1999) ce qui explique les différences de teneurs en lipides selon le type de pelage. Pour les mêmes raisons, l'étape de séparation mécanique (1) favorise l'élimination des lipides neutres par rapport aux lipides polaires. En effet, la couche lipidique sous-cutanée est essentiellement constituée de lipides de réserve (lipides neutres) tandis que les phospholipides, lipides de structure sont essentiellement présents au niveau des membranes cellulaires du muscle. Ainsi lors de la séparation mécanique de la chair et de la peau, l'élimination de la fraction de triglycérides est facilitée comparé aux phospholipides. De ce fait, les proportions en phospholipides des lipides totaux des filets (0) sont inférieures à celles de la chair (1) et les concentrations en phospholipides du muscle, exprimée pour 100 g de MH ou PS, ne varient pas entre les deux étapes (Tableau XXII). En fonction du réglage du séparateur mécanique une fraction plus ou moins importante de lipides et de muscle rouge peut être éliminée. Ce réglage doit être optimisé afin de ne pas diminuer de façon trop importante le rendement de cette première étape (Toyoda et coll., 1992).

Il est difficile d'estimer le rendement de chaque étape de transformation. En effet, celles-ci mettent en jeu l'élimination dans des proportions différentes de constituants présents dans la matière première. Il n'est donc pas possible de mesurer les gains et pertes à chaque étape. Cependant, la comparaison des données (teneurs en lipides totaux) exprimées par rapport à la matière humide et à la matière sèche, font apparaître qu'au cours de la première étape de lavage (entre les prélèvements 1 & 2), les eaux de lavage entraînent les composés solubles, essentiellement des protéines, en plus forte proportion que les lipides. La différence de la teneur en lipides totaux par rapport à la matière humide, résulte d'un effet de dilution puisque la teneur exprimée par rapport à la matière sèche augmente significativement.

Par la suite, au cours du tamisage puis lors de l'essorage centrifuge, les teneurs en lipides totaux/MS diminuent, montrant que les lipides sont spécifiquement éliminés avec les constituants résiduels de peau et d'arêtes. Il semblerait qu'au dessous d'un certain seuil de concentration en lipides, de l'ordre de 0,5 à 0,6 g/100 g MH, les lipides ne soient plus éliminés au cours de cette étape (Tableau XXI ; Figure 27). En effet, les teneurs en lipides de la chair tamisée sont très proches quelle que soit la teneur en lipides initiale (Tableau XXI).

Au cours de la dernière étape d'essorage (5), une fraction des lipides est éliminée dans l'eau de lavage. Cette fraction lipidique représente 13 à 20 % de la matière sèche de ce prélèvement (Tableau XXI). Les phospholipides représentent 8 à 12 % des lipides éliminés au cours de cette étape.

L'incorporation des cryoprotecteurs à la pâte induit une augmentation de la matière sèche du surimi. Cet apport de matière sèche est responsable des diminutions des teneurs en lipides, exprimés en g/100 g PS, du surimi (Tableau XXI).

La proportion en phospholipides des lipides de la pâte et du surimi sont supérieures à celles mesurées dans les autres prélèvements. Des résultats similaires ont été obtenus lors de la transformation de filets de sardines (*Sardina pilchardus*) (Nunes et coll., 1992 a). Les phospholipides constituent la bicouche lipidique des membranes cellulaires dans lesquelles ils sont ancrés à des protéines. Au cours de la transformation, même si les cellules sont détruites, ces molécules amphiphiles sont susceptibles d'interagir avec des protéines telles que les protéines myofibrillaires. Les phospholipides sont donc peu enclins à être éliminés au cours des lavages tandis que les lipides neutres qui ne s'associent pas aux protéines sont plus facilement éliminés. Au cours du procédé de fabrication du surimi, il se produit un effet de concentration des phospholipides dans les produits finis : la pâte et le surimi.

Les lipides du surimi contiennent une forte proportion d'acides gras polyinsaturés. Cette proportion est supérieure à celle mesurée dans les filets (Tableau XIX). Les acides gras polyinsaturés sont présents en plus forte proportion dans les fractions de phospholipides par rapport aux lipides neutres (Bandarra et coll., 2001 ; Passi et coll., 2001), ce que nous avons vérifié sur nos produits (résultats non présentés). Les phospholipides étant plus difficilement éliminés au cours du procédé, il se produit une concentration en acides gras polyinsaturés au niveau du surimi. Les mêmes résultats ont été obtenus par Nunes et coll. (1992). D'après ces auteurs, la proportion d'acides gras polyinsaturés dans le surimi est plus élevée que celle mesurée dans les filets de sardines. La proportion importante d'acides gras $\omega 3$ dans le surimi est intéressante d'un point de vue nutritionnel et notamment par leur action de prévention dans développement des maladies cardiovasculaires (Love, 1992). La présence d'acides gras $\omega 3$ est également devenue un argument commercial de vente des produits de type surimi.

II-2-2- Quelles étapes du procédé favorisent l'oxydation des lipides ?

Les concentrations en produits primaires et secondaires de l'oxydation des lipides augmentent au cours du procédé de transformation.

Lors de la transformation du lot C, les concentrations en hydroperoxydes et en sr-TBA, exprimées par rapport à la matière sèche (MS) ou humide (MH), sont plus faibles dans la chair que dans les filets. La même tendance est observée pour les sr-TBA exprimés par g de lipides qui sont divisés par un facteur supérieur à 3. Par contre le phénomène inverse est observé pour les sr-TBA (quel que soit le mode d'expression) et pour les hydroperoxydes, rapportés au g de lipides, lors de la transformation des chinchards du lot D tandis que les teneurs en hydroperoxydes rapportées à la matière sèche ou humide, restent stables. Deux hypothèses peuvent expliquer les différences observées dans les niveaux d'oxydation des lipides, des filets préparés manuellement et de la chair obtenue par séparation mécanique. La première est que, lors du broyage mécanique, une proportion des produits d'oxydation des lipides soit retirée avec la couche graisseuse sous cutanée et le muscle rouge. Le même phénomène devrait être observé pour les deux lots de chinchards, or ce n'est pas le cas. Il semblerait plutôt que l'oxydation des lipides ait été favorisée lors de la préparation des filets de chinchards du lot C avant analyse. En effet, bien que les conditions opératoires soient similaires, les filets des deux lots n'ont pas été préparés en même temps. Des facteurs, tels que la température, la teneur en lipides et la sensibilité aux réactions d'oxydation des filets..., ont

pu amplifier les réactions d'oxydation des lipides lors de la préparation manuelle des filets de chinchards frais.

Les lipides de la chair obtenus après le broyage mécanique des chinchards du lot D présentent des niveaux d'oxydation nettement supérieurs à ceux observés dans la chair issue de la transformation des chinchards du lot C. D'une manière générale, l'étape de broyage est favorable à l'oxydation des lipides. En effet, au cours de cette étape de l'oxygène est réintroduit au sein de la chair et la compartimentation cellulaire est rompue (Hall & Ahmad, 1992 ; Hultin, 1994). Les structures cellulaires sont détruites et la perte des conditions anaérobies du muscle et la dégradation cellulaire induit la production de O_2° et d' H_2O_2 par la xanthine oxydase (Hultin, 1994). Les contacts entre les molécules pro-oxydantes, telles que les protéines héminiques, présentes et les lipides sont alors favorisés et les réactions d'oxydation des lipides amplifiée (Hultin, 1994). En effet, au cours du broyage le sang est mélangé à la chair. Or les composés sanguins sont les principaux responsables de l'activité pro-oxydante lors du broyage (Richards et coll., 1998). Les teneurs en sr-TBA, exprimées par kg MH ou MS, sont doublées tandis que celles exprimées par g de lipide sont triplées (Tableau XXIV).

Au cours de l'étape de lavage de la chair, l'oxydation des lipides est encore amplifiée. Malgré la faible sensibilité de la méthode, les valeurs de diènes conjugués augmentent au cours de cette étape tandis que les concentrations en hydroperoxydes varient peu. Par contre, les concentrations en produits secondaires de l'oxydation des lipides (sr-TBA) augmentent fortement. Exprimée par kg de poids sec, elles sont de 15 à 20 fois plus élevées dans la chair lavée que dans la chair en sortie de séparateur (Tableau XXIV). Le lavage est une étape de brassage favorisant les contacts entre les lipides et les molécules pro-oxydantes. Cette étape permet l'élimination de lipides mais également des substances anti-oxydantes naturellement présentes (Undeland, 2002 a).

Au cours du tamisage, la formation des hydroperoxydes et des composés secondaires de l'oxydation des lipides se poursuit (Tableau XXII; Figure 28). Les fragments de chair sont poussés à travers un tamis par un système de pales. L'échauffement qui en résulte favorise les réactions d'oxydation des lipides. Ainsi, les réactions d'oxydation amorcées au cours du lavage s'amplifient.

Une grande partie des produits primaires et secondaires de l'oxydation des lipides sont éliminés au cours de l'étape d'essorage centrifuge. Les valeurs des indices d'oxydation des lipides (diènes conjugués, hydroperoxydes, sr-TBA) sont particulièrement élevées dans l'eau issue de l'essorage centrifuge. Cette étape permet donc d'éliminer une bonne partie des

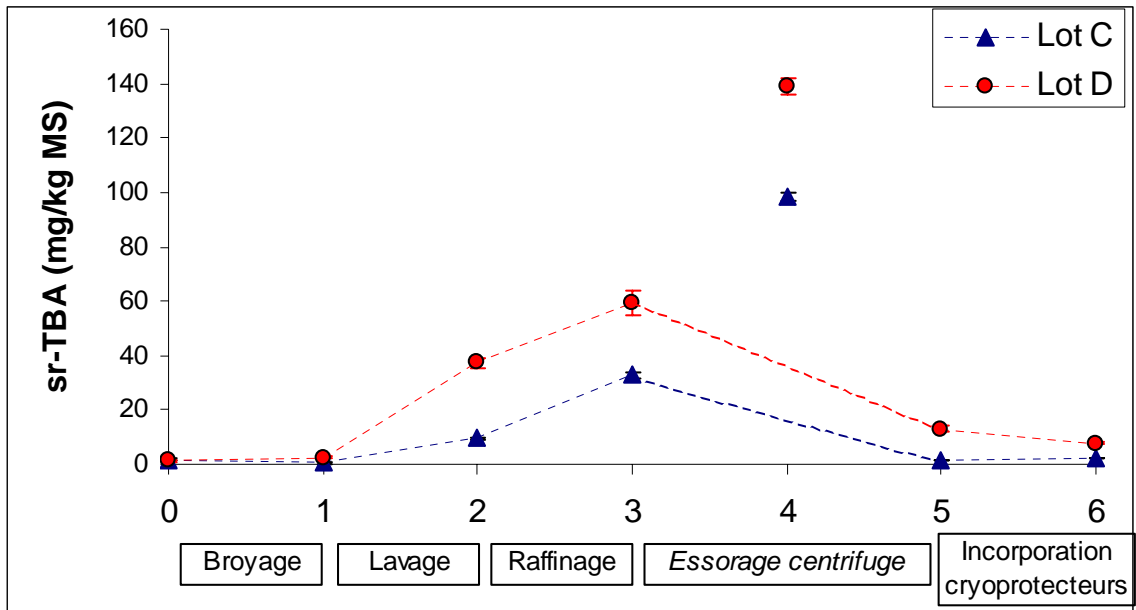


Figure 28 Evolution des concentrations en sr-TBA des produits prélevés au cours de la transformation du surimi à partir de chinchards ou frais et conservés 36 heures sous glace. Les chiffres de l'axe des abscisses correspondent aux différents prélèvements : (0) filets, (1) chair, (2) chair lavée, (3) chair tamisée, (4) eau d'essorage, (5) pâte, (6) surimi.

produits d'oxydation des lipides déjà formés. Ce résultat est particulièrement intéressant car il n'avait pas été montré ni envisagé que cette étape permettrait d'éliminer une part des produits d'oxydation des lipides formés. En effet, les produits d'oxydation des lipides à longue chaîne, et notamment les hydroperoxydes de lipides, sont plutôt hydrophobes, or ces composés sont éliminés dans l'eau d'essorage. Une proportion importante des produits d'oxydation des lipides étant éliminée au cours de l'essorage centrifuge, les concentrations présentes dans la pâte et le surimi sont diminuées par rapport à celles de la chair tamisée (Tableau XXIII & XXIV; Figure 28). Des problèmes techniques rencontrés au cours de l'incorporation des cryoprotecteurs à la pâte obtenue à partir des chinchards frais expliquent les différences de concentrations en sr-TBA observées entre la pâte et le surimi (Tableau XXIV). En effet, l'incorporation des cryoprotecteurs a été réalisée en absence de vide et de réfrigération. La présence d'oxygène et la température ont ainsi favorisé les réactions d'oxydation des lipides.

Les valeurs de sr-TBA mesurées pour la pâte fabriquée à partir de chinchards conservés 36 heures sous glace sont supérieures à celles mesurées sur le surimi. Pour cette transformation, l'incorporation des cryoprotecteurs a bien été réalisée sous vide, à 4°C et immédiatement après obtention de la pâte limitant ainsi les dégradations du surimi. Mais pendant l'incorporation des cryoprotecteurs, la pâte prélevée pour les analyses était stockée dans un bac à 4°C. Il semblerait que ce temps d'attente ait favorisé les réactions d'oxydation des lipides dans la pâte. Ces résultats démontrent que les produits obtenus en fin de procédé (pâte et surimi) sont très fragiles et nécessitent un traitement en continu, actuellement difficile à mettre en oeuvre sur la chaîne pilote. Malgré la faible teneur en lipides de ces produits ils sont très sensibles aux réactions d'oxydation.

Les réactions d'oxydation des lipides sont amorcées dès les premières étapes du procédé et se développent à chaque étape. Ce sont des réactions en chaîne qui s'amplifient au cours de l'avancement du procédé. Bien qu'elles permettent d'éliminer une partie des substances pro-oxydantes, les premières étapes de lavage sont les étapes les plus favorables au démarrage des réactions d'oxydation des lipides. La dernière étape d'essorage se révèle également très importante. Elle permet non seulement d'éliminer l'eau afin d'obtenir le concentré protéique mais surtout elle permet d'éliminer une part appréciable des composés résultant de l'oxydation des lipides produits au cours des étapes précédentes.

L'étape finale d'incorporation des cryoprotecteurs devra être réalisée en continu sur la chaîne de transformation. La pâte et le surimi sont en effet des produits très fragiles et la fabrication nécessite des conditions optimales de traitement avec une maîtrise parfaite des

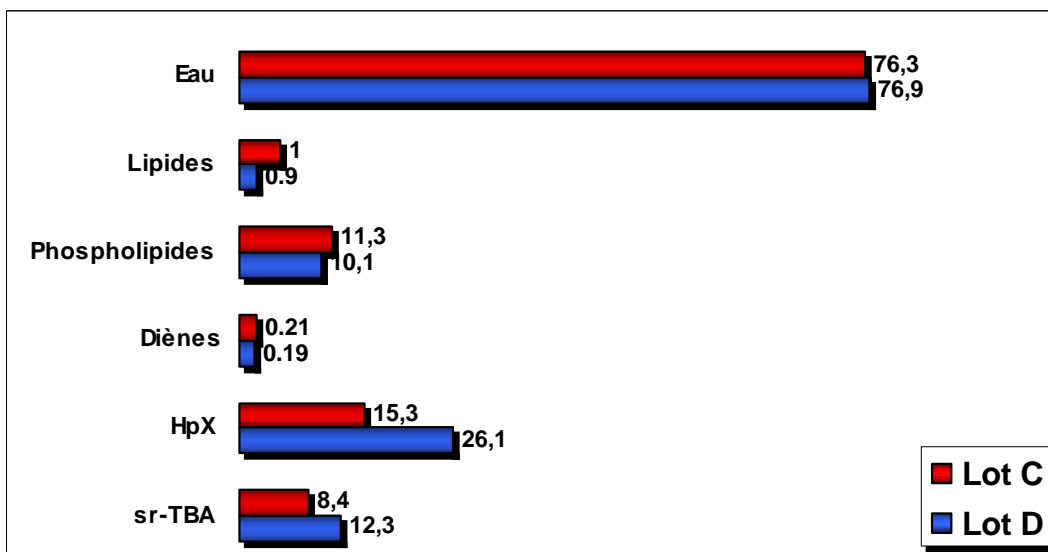


Figure 29 Comparaison des teneurs en eau (g/100g), en lipides (g/100g PF), en phospholipides (g/100g lipides) et des concentrations en produits d'oxydation des lipides, diènes conjugués (A_{233}/A_{214}), hydroperoxydes ($\mu\text{moles/g}$ lipide), sr-TBA ($\mu\text{g/g}$ lipide), obtenues pour les **filets** préparés à partir de chinchards « frais » (Lot C) ou conservés 36 heures sous glace (Lot D).

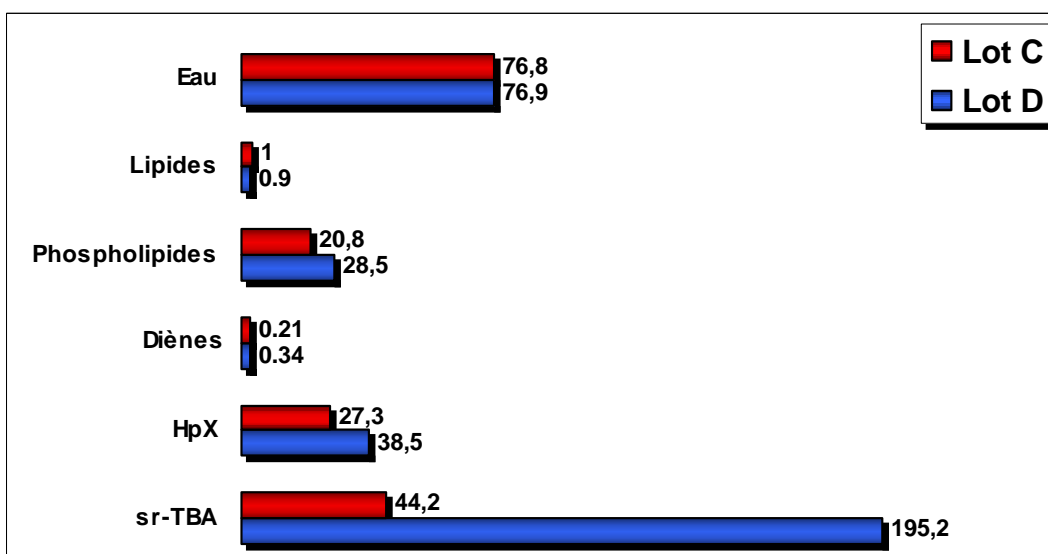


Figure 30 Comparaison des teneurs en eau (g/100g), en lipides (g/100g PF), en phospholipides (g/100g lipides) et des concentrations en produits d'oxydation des lipides, diènes conjugués (A_{233}/A_{214}), hydroperoxydes ($\mu\text{moles/g}$ lipide), sr-TBA ($\mu\text{g/g}$ lipide), obtenues pour du **surimi** fabriqué à partir de chinchards « frais » (Lot A) ou conservés 36 heures sous glace (lot B).

paramètres tels que la température, l'apport d'oxygène, la durée des étapes...). Les concentrations en produits d'oxydation des lipides dans le surimi de chinchards sont relativement élevées même quand il est préparé à partir de chinchards frais. Le surimi est un produit alimentaire intermédiaire qui est retransformé par les industriels. La présence de concentrations élevées en produits d'oxydation des lipides est indésirable. En effet, ces composés peuvent contribuer à propager les réaction d'oxydation au cours des étapes ultérieures de seconde transformation. Ils peuvent également réagir avec d'autres molécules comme les protéines et induire des altérations de la qualité sensorielle et biochimique des produits au cours de la conservation et de la seconde transformation. Il est indispensable de limiter ces réactions d'oxydation des lipides au cours du procédé.

II-3- Influence de la qualité de la matière première sur celle du surimi

II-3-1- La teneur en lipides de la matière première n'influence pas celle du surimi

Les résultats obtenus montrent que la teneur en lipides de la matière première n'influence pas celle du surimi. En effet, quelle que soit la teneur en lipides de la matière première, les teneurs en lipides du surimi sont identiques (Annexe 3, Figure 29 & 30). La proportion de lipides éliminés dépend donc de la teneur initiale en lipides des filets. Ainsi, 80 % des lipides des filets de chinchards frais ont été éliminés, contre 57 % pour les filets prélevés sur les chinchards conservés 36 heures sous glace. Des résultats comparables ont été obtenus lors de la fabrication de surimi à partir de sardines (*Sardina pilchardus*) (Nunes et coll., 1992 a). Ces travaux montraient en effet qu'à partir de sardines ayant des teneurs en lipides variant de 3,4 à 8,2 g/100 g MH, les surimis obtenus avaient des teneurs en lipides identiques, 0,2-0,3 g/100 g MH.

Les proportions en phospholipides des lipides totaux de la matière première (lot C & lot D) sont différentes de celles des lipides extraits des surimis des deux lots (Annexe 3, Figure 29 & 30). Au cours des lavages, les lipides de structure, constituants des membranes cellulaires, sont difficilement éliminés. En effet, les lipides présents dans le surimi sont pour une proportion importante (21 à 28 %) des lipides de structure non accessibles au lavage. Les lipides neutres sont plus facilement éliminés que les lipides polaires au cours des lavages.

L'impact des différentes teneurs en phospholipides observées entre les surimis des lots A et B pourrait être étudié en terme d'oxydabilité du surimi et des propriétés fonctionnelles.

La teneur en lipides totaux de la matière première n'est pas déterminante pour la teneur finale dans le surimi. Par contre, au cours du procédé, quelle que soit la teneur en lipides il se produit un effet de concentration des phospholipides. Au cours du chapitre précédent il a été montré que les proportions d'acides gras monoinsaturés et polyinsaturés variaient en fonction des lots de chinchards étudiés. Il serait intéressant par la suite d'étudier l'impact de la composition en acides gras de la matière première sur celle du surimi et sur ses qualités.

II-3-2- Le niveau initial d'oxydation des lipides dans la matière première est critique quand à la qualité du surimi

Comme il a été montré dans le chapitre 1, la durée et le mode de conservation des chinchards influencent le degré d'oxydation des lipides dans le surimi. Les concentrations en hydroperoxydes et sr-TBA, exprimées par g de lipides, sont les plus élevées dans les chinchards conservés 36 heures sous glace (Figure 29 ; Tableau XX).

La valeur de diènes conjugués et les concentrations en hydroperoxydes, exprimées par g de lipides, du surimi fabriqués à partir de chinchards conservés 36 heures sous glace sont supérieures à celles mesurées pour le surimi obtenu à partir de chinchards frais (Figure 30 ; Annexe 4 & 5). La concentration en hydroperoxydes du surimi fabriqués à partir de chinchards conservés 36 heures sous glace est une fois et demi plus élevée dans le surimi obtenu à partir de chinchards frais tandis que la teneur en sr-TBA, exprimée par g de lipides, est quatre fois plus élevée (Figure 30 ; Annexe 5). Les hydroperoxydes sont des molécules instables rapidement décomposées en produits secondaires de l'oxydation. Les hydroperoxydes se décomposent tandis que les sr-TBA s'accumulent dans un premier temps dans le produit. Les réactions d'oxydation des lipides se développent de façon plus importante lors de la transformation des poissons conservés 36 heures sous glace par rapport aux poissons frais.

Après la première étape de lavage, la concentration en sr-TBA de la chair lavée préparée à partir du lot D est supérieure à celle de la chair lavée obtenue à partir de chinchards du lot C (Figure 28). Richards et coll. (1998) ont montré que le lavage des filets de

maquereaux (*Scomber scombrus*) frais permettait d'éliminer une grande partie des composés sanguins. Par contre, l'effet du lavage est moindre sur des filets conservés 5 à 6 jours sous glace car le sang a coagulé au sein du muscle et est plus difficilement évacué, favorisant alors les réactions d'oxydation des lipides

La durée et le mode de conservation des chinchards déterminent la qualité initiale de la matière première et par la suite celle du surimi. Le degré d'oxydation des lipides doit être le plus faible possible au sein des poissons afin de limiter l'amplification des réactions d'oxydation au cours de la transformation. A l'issue de ce travail il est recommandé de transformer les poissons très rapidement après capture. Le degré d'oxydation des lipides étant élevé pour le surimi transformé à partir de chinchards frais, la conservation sous glace ne devra pas excéder 6 heures avant transformation. La transformation à bord de navires usines apparaît comme la solution la mieux appropriée à la fabrication du surimi de poissons gras car elle permet une transformation très rapide après capture.

II-4- Modification et optimisation du procédé de transformation

Nous venons de démontrer que la qualité de la matière première est le premier critère déterminant pour obtenir un surimi de qualité. En effet, si l'oxydation des lipides est amorcée dans la matière première elle s'amplifiera au cours du procédé induisant une altération des propriétés biochimiques du surimi.

Suite à l'identification des étapes critiques du procédé, des améliorations techniques du procédé ont été proposées afin de limiter les réactions d'oxydation des lipides. Ces modifications ont pour objectif de limiter au maximum la présence des facteurs favorisant les réactions d'oxydation des lipides. Les modifications, dont certaines ont d'ores et déjà été apportées permettent de :

- **Contrôler la température**

La température est un catalyseur de l'oxydation des lipides. Ainsi, afin de limiter l'échauffement du produit, au cours de la transformation, la plupart des éléments de la chaîne pilote ont été réfrigérés. De plus l'eau de lavage est désormais refroidie à 4°C avant d'être



Figure 31 Séparateur mécanique de type *Lima*® installé sur la chaîne de transformation en remplacement du séparateur de type *Baader*®.

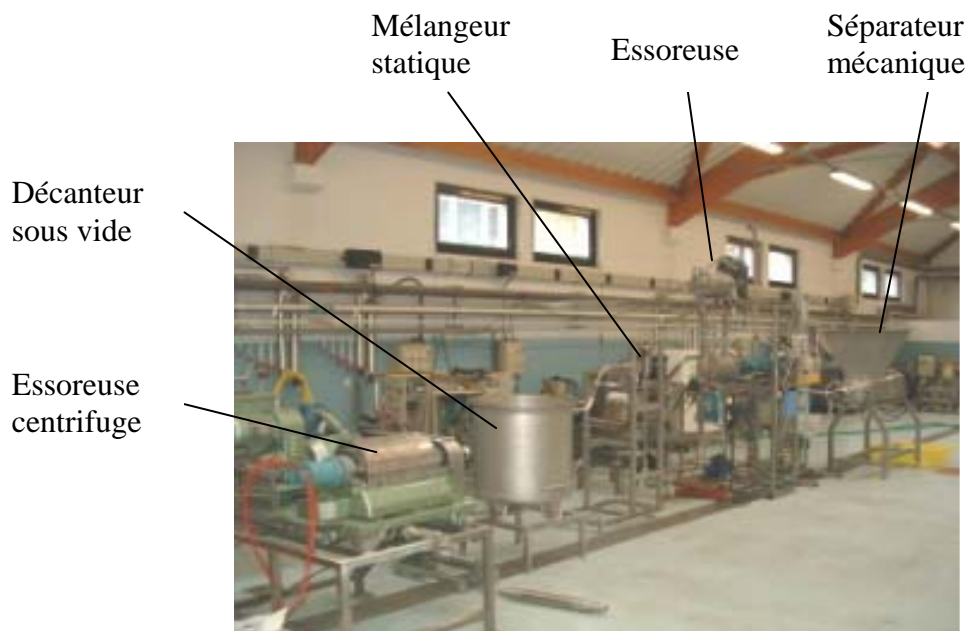


Figure 32 Photographie de la chaîne pilote (*IFREMER-Euro Seafood Trading*) de fabrication du surimi.

incorporée au produit. Afin de compléter ces améliorations, la transformation au niveau industriel devra être réalisée dans un hall réfrigéré.

- **Limiter l'incorporation d'oxygène au cours du procédé**

Afin de limiter le contact du produit avec l'oxygène, l'installation a été modifiée afin de travailler au maximum en système fermé. Au cours du broyage des filets à l'aide du séparateur à ruban, les filets et la chair étaient exposés à l'air. Pour limiter l'incorporation d'oxygène au cours de cette étape le séparateur mécanique à ruban (Figure 15) à été remplacé par un séparateur à vis Lima® (Figure 31). L'écrasement des muscles et la séparation de la peau et des arêtes sont alors réalisés par une vis qui presse la chair à l'intérieur des perforations d'un tamis, la peau et les arêtes étant retenues. Ce séparateur permet de travailler en milieu fermé car la vis et le tamis sont situés à l'intérieur d'un fourreau qu'il est possible de réfrigérer. Il sera intéressant de tester différents réglages de la machine afin d'éliminer le maximum de muscle brun, riche en lipides et en molécules pro-oxydantes. En effet, la localisation du muscle brun au niveau de la ligne latérale rend son élimination possible dans un procédé industriel (Hultin & Kelleher, 2000).

- **Limiter les temps d'échange/de contact**

Afin de limiter les temps de contact entre les substrats de l'oxydation et les agents pro oxydants lors de la transformation et notamment au cours des étapes de lavages, les débits d'eau et de pulpe ont été augmentés. Ainsi, la circulation du produit est plus rapide au cours de la transformation.

- **Maîtriser la qualité de l'eau de lavage**

L'eau de lavage doit également être contrôlée. Les principaux facteurs déterminant la qualité de l'eau incorporée dans le procédé sont : la force ionique, la concentration en sels inorganique, les ions métalliques, le pH et la température (Toyoda et coll., 1992).

Il est difficile d'éliminer l'eau quand la chair est lavée à une faible force ionique. L'addition de sel à la dernière étape de lavage permettrait d'augmenter la force ionique et de faciliter l'essorage. Cependant selon la matrice étudiée, le NaCl se révèle comme un pro ou un antioxydant (Hultin 1992, 1994). Il sera donc nécessaire d'étudier l'impact de l'addition de NaCl sur les réactions d'oxydation des lipides.

Une concentration élevée en sels inorganiques (Ca^{2+} et Mg^{2+}) de l'eau de lavage affecte négativement la capacité de gélification du surimi. Il est également important de limiter la concentration en fer qui est un initiateur de radicaux libres (Hultin, 1992).

La température de l'eau ne doit pas excéder 4°C afin de limiter le développement microbien et l'oxydation des lipides.

- **Réguler le pH**

Les pH bas des poisson gras *post mortem* (< 6) favorisent la présence des formes actives de la myoglobine qui sont de très puissant catalyseurs de l'oxydation des lipides. Les réactions d'oxydation des lipides induites par la myoglobine sont en effet pH dépendantes (Baron & Andersen, 2002), de même que les réactions d'oxydation induites par les ions métalliques.

Les réactions d'oxydation des lipides pourraient être contrôlées en régulant le pH de la pulpe dès la première étape. Cette régulation du pH pourrait être réalisée par incorporation de carbonate de calcium à la chair, ce qui est déjà réalisé par certains industriels pour la transformation des petits pélagiques (Peral & Gartzia, 2003).

- **Ajouter des antioxydants**

L'incorporation d'antioxydants dès les premières étapes de la transformation permettrait de limiter les réactions d'oxydation. Le lavage des filets par une solution d'antioxydant permet de limiter les réaction d'oxydation des lipides (Richards et coll., 1998). Par la suite, l'effet des antioxydants est supérieur lorsqu'ils sont incorporés dès l'étape de broyage plutôt qu'au moment des lavages (Kelleher et coll., 1992). Des antioxydants à base de tocophérols, puissant antioxydants, sont disponibles mais ils ne sont pas hydrosolubles et donc difficiles à incorporer au cours du procédé de transformation. Il faut donc trouver un

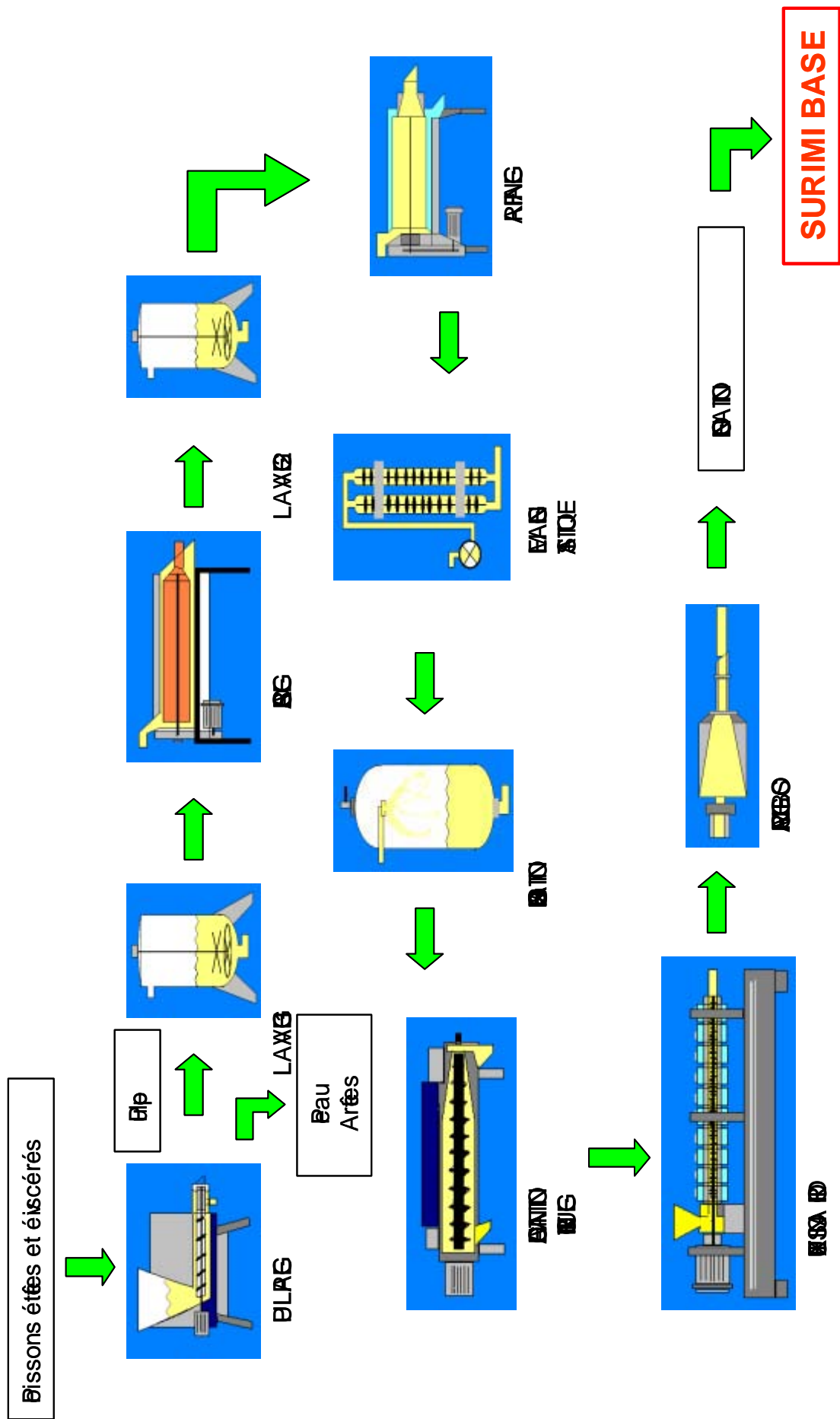


Figure 33 : Schéma des étapes unitaires de la chaîne de fabrication du surimi (IFREMER – Euro Seafood Trading).

antioxydant (ou un mélange) capable d'agir au niveau des phases grasses sans être éliminé au cours des lavages, à moins de l'incorporer à toutes les étapes du procédé ce qui serait très coûteux. Différents antioxydants alimentaires ainsi que leur mode d'incorporation devront être testés afin de déterminer l'antioxydant le plus efficace en tenant compte du coût induit par cette addition.

- **Nettoyage de la chaîne de production**

Il sera indispensable de mettre en place une procédure de nettoyage efficace pour la chaîne de production industrielle. Ce nettoyage pourra être facilité en limitant la présence de raccords soudés dans lesquels la chair peut stagner. La fréquence et la procédure de nettoyage de la chaîne devront faire l'objet de procédures rigoureusement établies.

La qualité de la matière première est le premier critère essentiel à l'obtention d'un surimi de qualité. L'ensemble des étapes du procédé se sont révélées critiques vis à vis de l'oxydation des lipides. Ainsi, des propositions de modifications du procédé ont été formulées afin d'améliorer la qualité du surimi de chinchards. La chaîne de transformation qui fait actuellement l'objet d'un transfert vers des industriels est présentée Figure 32 et 33. Certaines améliorations ont été apportées mais elles entraînent un coût supplémentaire pour la transformation des chinchards. Cependant, elles sont la condition indispensable à l'obtention d'un produit de qualité. De plus d'autres éléments devront être pris en compte dont notamment le traitement des effluents du procédé ainsi que des déchets de poissons. La valorisation de ces co-produits pourra également être envisagée.

CHAPITRE 4:
**DEVENIR DES PRODUITS D'OXYDATION DES LIPIDES AU COURS
DE LA CONSERVATION DE LA PÂTE ET DU SURIMI DE
CHINCHARD A -20°C ET -20°C SOUS VIDE**

Le surimi est un produit intermédiaire qui est retransformé par les industriels de la seconde transformation. Afin de maintenir ses propriétés biochimiques et organoleptiques, le surimi est conservé à l'état congelé, son délai limite d'utilisation après transformation étant de 6 mois. Au cours de la fabrication du surimi de chinchard, les réactions d'oxydation des lipides se développent et sont responsables de la présence de produits d'oxydation des lipides dans le produit fini. Ces concentrations en produits d'oxydation des lipides sont d'autant plus élevées que la matière première utilisée est de moins bonne qualité.

L'objectif de cette étude était de connaître l'évolution, au cours de la conservation à l'état congelé, de l'état d'oxydation de la pâte (surimi sans cryoprotecteur) et du surimi, fabriqués à partir de chinchards frais (Lot C) ou ayant été conservés 36 heures sous glace (Lot D). La conservation de la pâte et du surimi a été réalisée à -20°C en emballage sous vide ou en emballage fermé de façon non hermétique. Cette étude visait en effet à déterminer l'influence de différents paramètres, tels que le type de conditionnement, la présence de cryoprotecteurs, la concentration initiale en produits d'oxydation des lipides, sur l'évolution des propriétés biochimiques de la pâte et du surimi au cours de leur conservation. Pour cela, en plus de la détermination des teneurs en produits primaires et secondaires de l'oxydation, l'étude des caractéristiques de fluorescence des composés de la pâte et du surimi a été réalisée par spectroscopie de fluorescence en mode frontal. En effet, cette technique est en mesure de fournir des informations sur les altérations subies par les protéines et sur la formation de composés fluorescents au cours de l'oxydation des lipides.

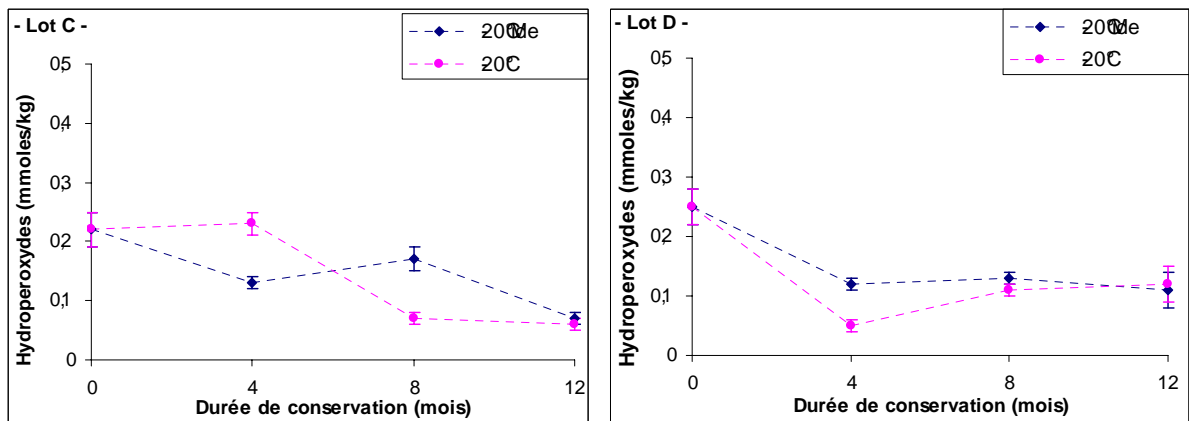


Figure 34 Teneurs en hydroperoxydes (mmoles Eq CuOOH/kg MH) de la **pâte** fabriquée à partir de chinchards frais (Lot C) ou conservés 36 heures sous glace (Lot D) au cours de la conservation à -20°C et -20°C sous vide.

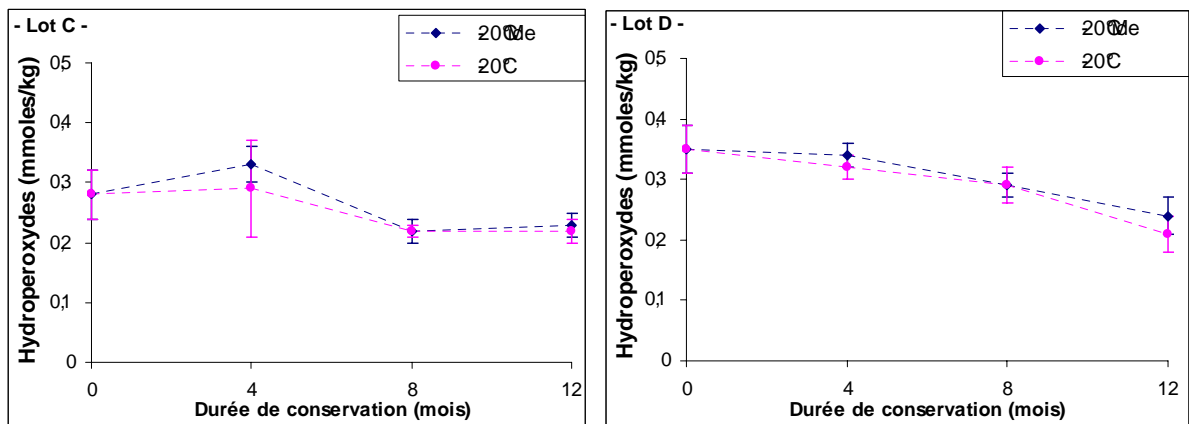


Figure 35 Teneurs en hydroperoxydes (mmoles Eq CuOOH/kg MH) du **surimi** fabriqué à partir de chinchards frais (Lot C) ou conservés 36 heures sous glace (Lot D), au cours de la conservation à -20°C et -20°C sous vide.

I- DIMINUTION DES TENEURS EN COMPOSÉS PRIMAIRES ET SECONDAIRES DE L'OXYDATION DES LIPIDES AU COURS DE LA CONSERVATION

Quels que soient les produits d'oxydation et leurs concentrations initiales, quels que soient la matrice étudiée (pâte et surimi) et le mode de conservation utilisé (-20°C et -20°C sous vide), la concentration en produits d'oxydation des lipides (hydroperoxydes et sr-TBA) diminue au cours des 12 mois de conservation à l'état congelé.

La concentration en hydroperoxydes de la pâte du lot C ou D passe respectivement de 0,22 à 0,065 mmoles Eq CuOOH/kg et de 0,25 à 0,115 mmoles Eq CuOOH/kg entre 0 et 12 mois de conservation à -20°C et -20°C sous vide (Figure 34, Annexe 7). Celle du surimi fabriqué à partir de chinchards frais diminue de 0,28 à 0,22 mmoles Eq CuOOH/kg et de 0,35 à 0,23 mmoles Eq CuOOH/kg pour le surimi fabriqué à partir de chinchards conservés 36 heures sous glace (Figure 35, Annexe 8). Ces diminutions de la teneur en hydroperoxydes sont d'un facteur 2 à 3,6 pour la pâte et d'un facteur 1,3 à 1,6 pour le surimi. La diminution, au cours de la conservation, des concentrations en hydroperoxydes résulte de leur dégradation ou/et de leur réaction avec d'autres constituants (protéines). Quel que soit le mode de conservation, -20°C et -20°C sous vide, l'évolution et les valeurs des concentrations en hydroperoxydes sont similaires (Figures 34 & 35). La mise sous vide n'influence donc pas l'évolution de la concentration en hydroperoxydes de la pâte et du surimi au cours de la conservation.

Les teneurs en produits secondaires (sr-TBA) d'oxydation des lipides (sr-TBA) diminuent au cours de la conservation à -20°C et -20°C sous vide. Quels que soit le produit analysé, pâte ou surimi, et quel que soit le niveau initial en sr-TBA, la teneur en sr-TBA est diminuée d'un facteur 2 entre 0 et 12 mois de conservation à -20°C et -20°C sous vide. Cette diminution des valeurs de sr-TBA a également été observée au cours de la conservation des chinchards sous glace ou à 17°C (Figure 24). Elle résulte d'une dégradation de ces composés et/ou d'interactions contractées avec d'autres molécules, notamment les protéines. La diminution de la concentration en sr-TBA est très accentuée entre 0 et 4 mois de conservation puis se stabilise par la suite, sauf pour la pâte fabriquée à partir de chinchards frais (Figure 36 & 37). Il apparaît que plus la concentration initiale en sr-TBA est élevée plus la diminution de la concentration en sr-TBA est prononcée au cours de la conservation (Figure 36 & 37 ; Annexe 7 & 8). La valeur des sr-TBA est représentative de la concentration « globale » en sr-TBA à un instant donné, elle illustre la résultante entre la quantité de sr-TBA formée et la

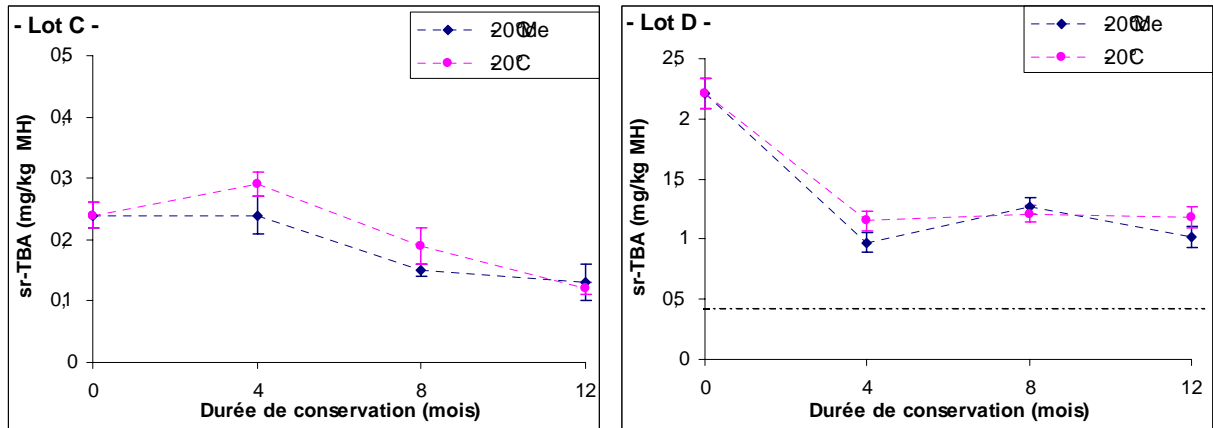


Figure 36 Teneurs en sr-TBA (mg Eq MDA/kg MH) de la **pâte** fabriquée à partir de chinchards frais (Lot C) ou conservés 36 heures sous glace (Lot D), au cours de la conservation à -20°C et -20°C sous vide.

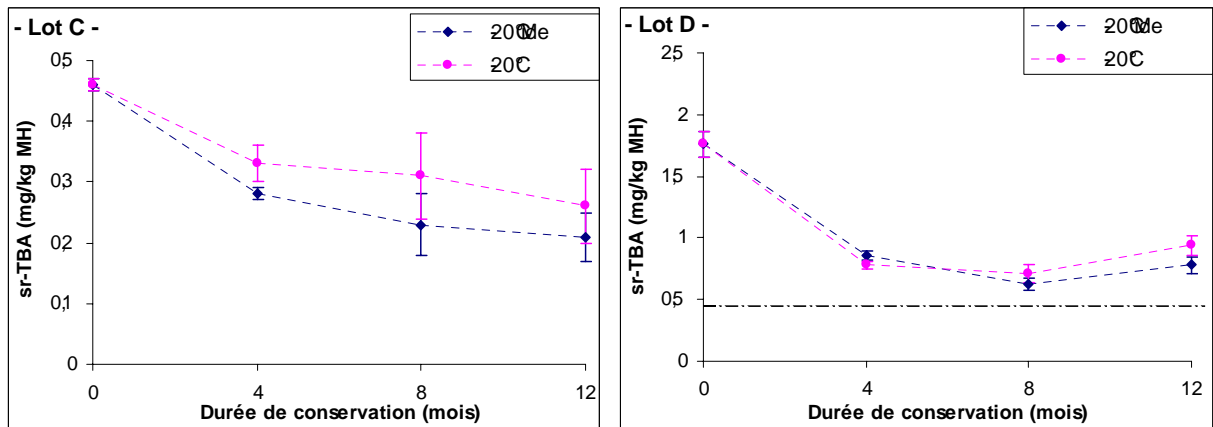


Figure 37 Evolution des teneurs en sr-TBA (mg Eq MDA/kg MH) du **surimi** fabriqué à partir de chinchards frais (Lot C) ou conservés 36 heures sous glace (Lot D), au cours de la conservation à -20°C et -20°C sous vide.

quantité de sr-TBA dégradés ou impliqués dans des interactions. La diminution des sr-TBA est attribuée à la dégradation de ces composés ou à des interactions entre les sr-TBA et d'autres molécules, mais la formation de sr-TBA au cours de la conservation ne peut être exclue.

Les évolutions de la concentration en sr-TBA, pour des teneurs initiales en sr-TBA proches, sont similaires pour la pâte et le chinchard fabriqués à partir de chinchards conservés 36 heures sous vide. Les cryoprotecteurs n'influencent pas l'évolution de la teneur en produits secondaires de l'oxydation des lipides au cours de la conservation à l'état congelé.

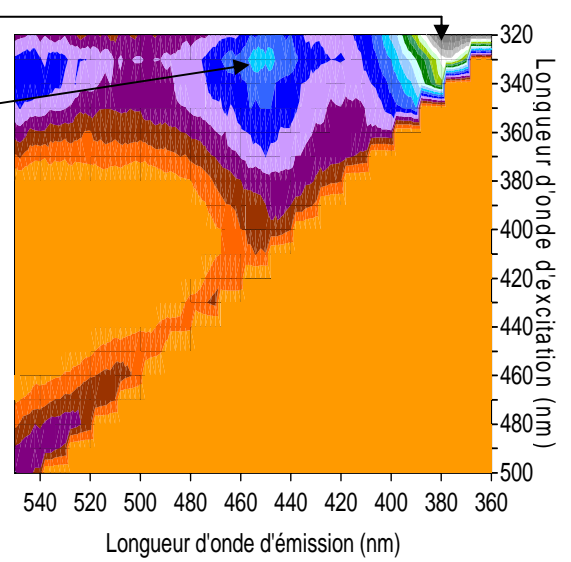
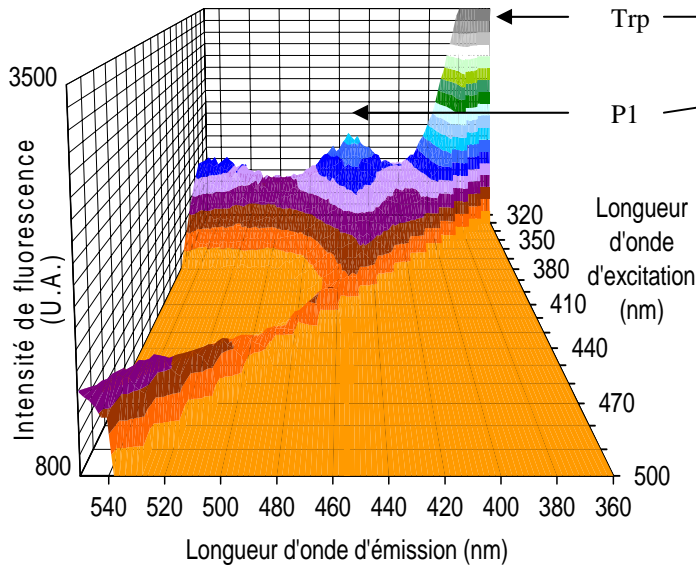
Les quantités de sr-TBA mesurées au cours de la conservation sous vide sont légèrement inférieures à celles observées lors de la conservation en absence de vide. La présence d'oxygène favorise le maintien des réactions d'oxydation des lipides au cours de la conservation à -20°C . Cependant, ces différences ne sont pas suffisamment importantes pour justifier l'utilisation d'un emballage sous vide pour conserver le surimi à l'état congelé. Ainsi, en ce qui concerne les réactions d'oxydation des lipides l'emballage traditionnellement utilisé pour la conservation du surimi à -20°C semble suffisant. Cependant, il sera nécessaire de compléter ces résultats par des analyses de l'altération des protéines, de la texture, de la force de gel, et par de l'analyse sensorielle, critères déterminants pour la qualité du surimi. En effet, la baisse des concentrations en produits d'oxydation des lipides résulterait des interactions de ces composés avec d'autres molécules. Ces interactions provoquent la dénaturation des protéines induisant la perte de leurs propriétés fonctionnelles. L'observation visuelle des échantillons lors des analyses biochimiques semble bien aller dans ce sens.

Au cours de la conservation à -20°C et -20°C sous vide de la pâte et du surimi de chinchards, les teneurs en produits primaires et secondaires de l'oxydation des lipides diminuent. Ces résultats mettent en évidence l'insuffisance des mesures de sr-TBA ou d'hydroperoxydes pour déterminer des critères de qualité du surimi au cours de sa conservation. En effet, ces mesures ne prennent en compte que la résultante des réactions conduisant à la formation et à la disparition de composés formés de manière transitoire dans la matrice. Ce sont les quantités totales produites, susceptibles d'interagir avec d'autres molécules, notamment les protéines, et d'induire une dégradation des propriétés organoleptiques du surimi qu'il faudrait être en mesure d'évaluer. Les composés secondaires de l'oxydation des lipides, principalement des aldéhydes (sr-TBA), sont susceptibles d'interagir avec les groupements aminés des protéines et de générer des molécules fluorescentes. Il serait intéressant de mettre en évidence ces molécules qui réagissent avec les

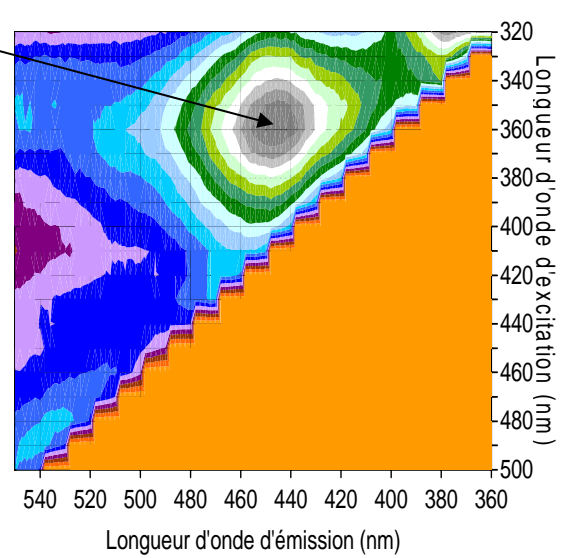
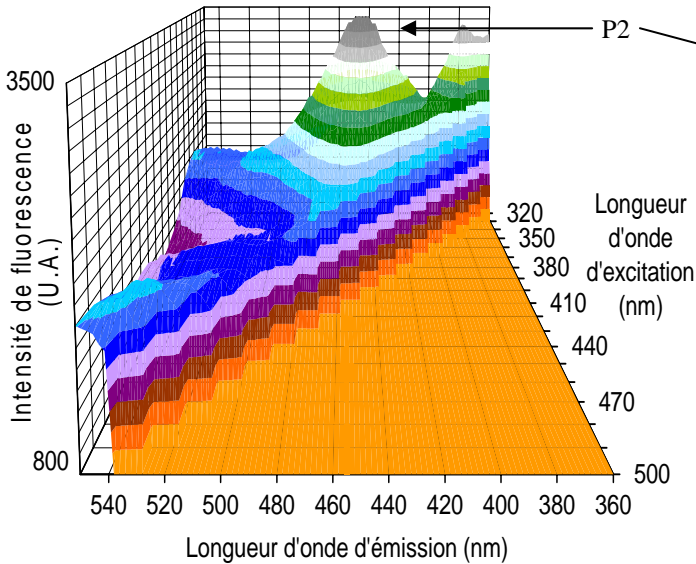
Vues 3D

Courbes de niveau

T0



24H



48H

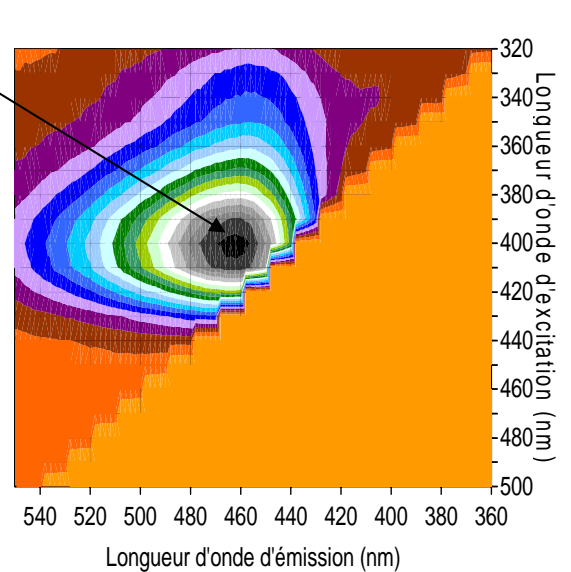
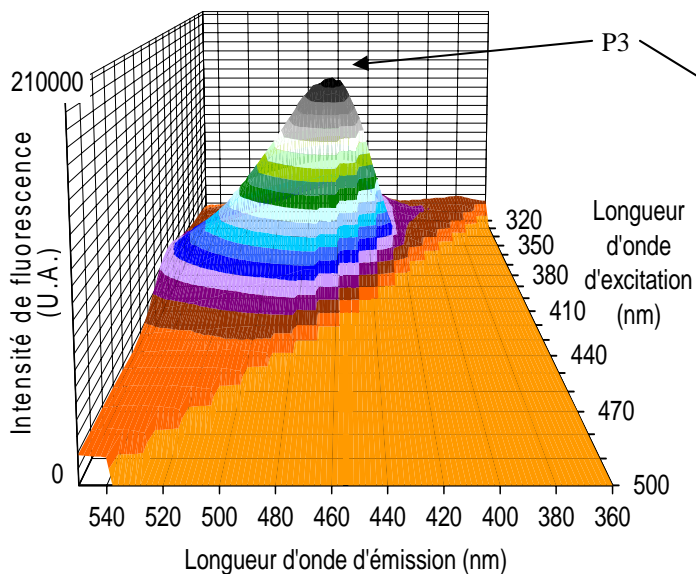


Figure 38 Spectres de fluorescence en 3 dimensions (**vue 3D** ou **courbes de niveau**) du surimi au temps 0 (**T0**) et après 24 (**24H**) ou 48 heures (**48H**) de conservation à température ambiante (20°C). P1 ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$: 330/450 nm), P2 ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$: 360/450 nm), P3 ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$: 400/463 nm), Trp ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$: 290/333 nm).

sr-TBA. C'est dans cet objectif qu'ont été réalisées des mesures par spectroscopie de fluorescence en mode frontal. Cette technique permettra d'évaluer si des molécules fluorescentes ont été formées dans la pâte et le surimi au cours de la conservation à l'état congelé. En parallèle, afin de visualiser l'influence éventuelle des composés d'oxydation des lipides sur les protéines, les spectres d'émission des résidus tryptophanyle des protéines (Trp) ont été enregistrés.

II- ANALYSE DE LA PÂTE ET DU SURIMI PAR SPECTROSCOPIE DE FLUORESCENCE EN MODE FRONTAL

II-1- Détermination des marqueurs fluorescents de l'altération du surimi

Afin de mettre au point les conditions d'enregistrement des spectres de fluorescence et de déterminer les caractéristiques spectrales des composés fluorescents, les spectres de fluorescence en mode frontal ont été réalisés sur le surimi, fabriqué à partir de chinchards frais, et sur le même surimi conservé 24 et 48 heures à 20°C en présence d'air. Ces conditions de conservation sont favorables aux réactions d'oxydation des lipides et devraient induire la formation des composés fluorescents résultant d'interactions entre les produits d'oxydation des lipides et d'autres molécules.

Le spectre de fluorescence en trois dimension du surimi au temps initial (T_0) est caractérisé par la présence de deux pics principaux. Un pic dont les longueurs d'onde des maximums d'excitation et d'émission sont situés à 290 et 333 nm ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}=290/333$ nm) correspond à la fluorescence Trp. Un autre pic (P1) dont l'intensité maximale de fluorescence est beaucoup plus faible possède des maxima d'excitation et d'émission à 330 et 450 nm (Figure 38). Deux hypothèses peuvent être formulées concernant l'origine de ce pic. Il pourrait soit correspondre un pigment présent initialement dans la matière première, soit avoir été généré au cours de la transformation du surimi. Des essais réalisés sur des échantillons de chair de chinchard, prélevés en sortie de séparateur mécanique sur la chaîne de transformation, indique la présence de ce pigment dans la chair ce qui serait en faveur de la première hypothèse. Cependant, la structure et l'hétérogénéité de la chair (muscle blanc &

muscle rouge) n'ont pas permis d'obtenir des intensités de fluorescence suffisamment répétées pour être présentées. La spectroscopie de fluorescence en mode frontal est en effet bien adaptée pour des échantillons homogènes mais est difficilement utilisable sur des échantillons hétérogènes tels que de la chair de poisson.

Après 24 heures de conservation du surimi à 20°C l'intensité de fluorescence du pic correspondant au résidu tryptophanyle est diminué. Un autre pic (P2), dont le maximum de fluorescence est situé à $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$: 360/450 nm, est visible à T24 heures (Figure 38). Le pic P1 observé à T₀ n'est plus visible, le pic P2 présente une intensité de fluorescence maximale très élevée pouvant masquer le pic P1 (3500 U.A. pour P2 contre 1900 U.A. pour P1).

Après 48 heures de conservation du surimi à 20°C seul un pic (P3) situé à $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ = 400/463 nm est visible (Figure 38). Il présente une intensité de fluorescence très importante, bien plus élevée que celle des autres pics précédemment mesurés. Cette fluorescence intense masquerait les pics P1 et P2 ainsi que le pic des Trp qui ne sont plus visibles.

Le pic P2 présent après 24 heures de conservation à 20°C pourrait être un marqueur de l'altération du surimi et correspondre à l'apparition d'un pigment résultant d'interaction entre les produits d'oxydation des lipides et les protéines. Le pic P3 est présent dans un surimi très altéré, après 48 heures de conservation à 20°C. Afin d'évaluer de façon plus précise la cinétique de formation de ces composés, il sera intéressant de réaliser un suivi de la formation de ces composés fluorescents pour des temps de conservation du surimi plus rapprochés. Le suivi de la fluorescence devrait être complété par des mesures de sr-TBA et de l'analyse sensorielle afin de tenter de déterminer un indice de qualité pour le surimi à partir de ces différentes mesures. La technique de fluorescence, facile à mettre en œuvre et rapide, pourrait à elle seule permettre d'estimer le degré d'altération du surimi. En outre, il serait intéressant d'identifier les molécules à l'origine de ces pics fluorescents.

D'après la littérature, ces molécules seraient issues des réactions entre les produits d'oxydation des lipides (aldéhydes, hydroperoxydes) avec des composés contenant des groupements aminés (protéines, acides aminés, ADN, phospholipides) (Kikugawa and Beppu, 1987). Les diverses études réalisées dans ce domaine permettent de distinguer trois groupes de composés fluorescents caractérisés par leur maxima d'excitation et d'émission (Wold, 2000). Le premier groupe présente des maxima d'excitation entre 425 et 455 nm et d'émission entre 500 et 525 nm, ces composés seraient formés par des réactions entre protéines. Le deuxième groupe présente des maxima d'excitation entre 320 et 366 nm et d'émission entre 410 et 460 nm, ces composés sont formés par des réactions entre des hydroperoxydes et des

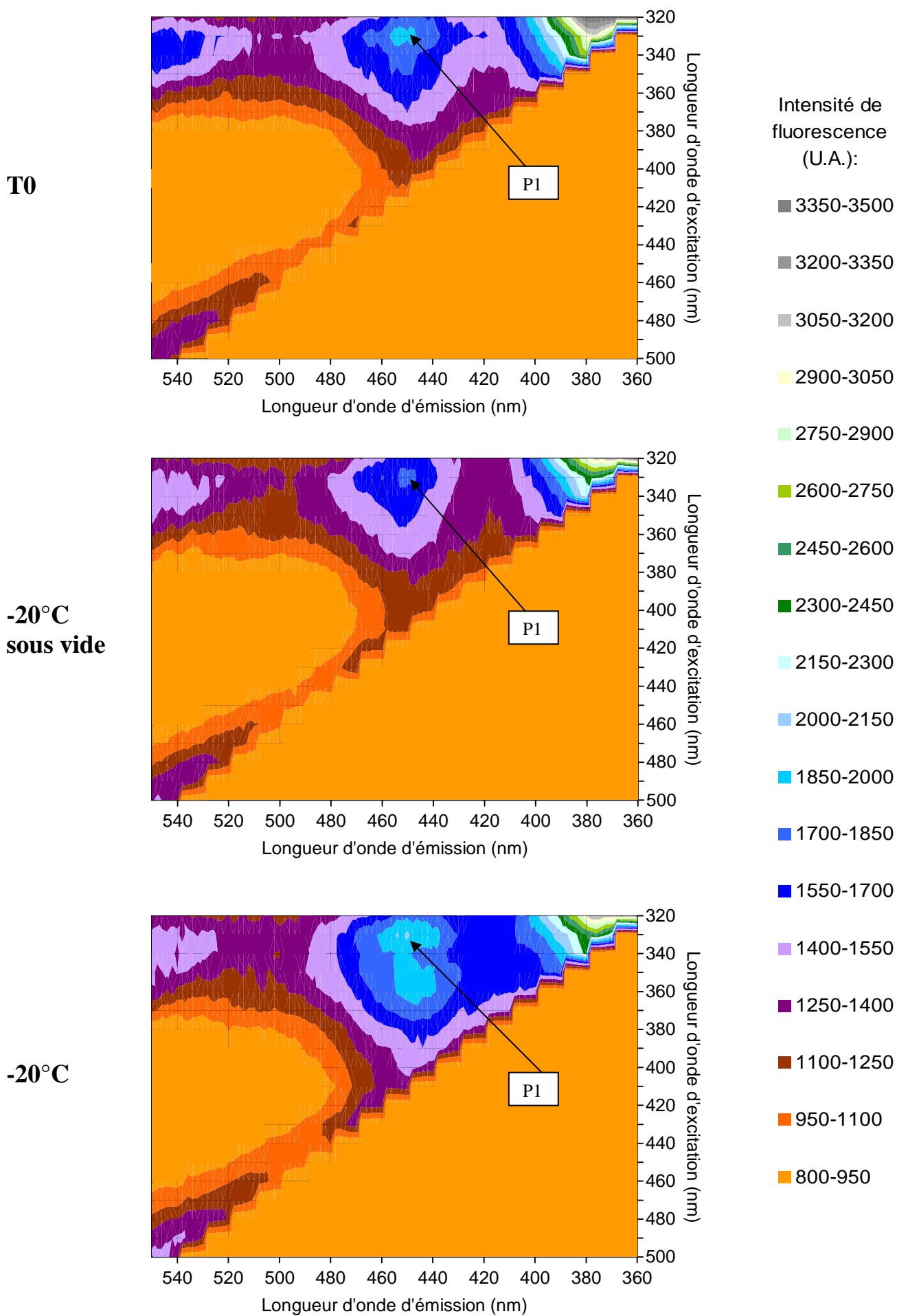


Figure 39 Spectres de fluorescence en 3 dimensions du surimi au temps 0 (**T0**) et après 12 mois de conservation à -20°C sans vide (**-20°C**) et avec vide (**-20°C sous vide**)

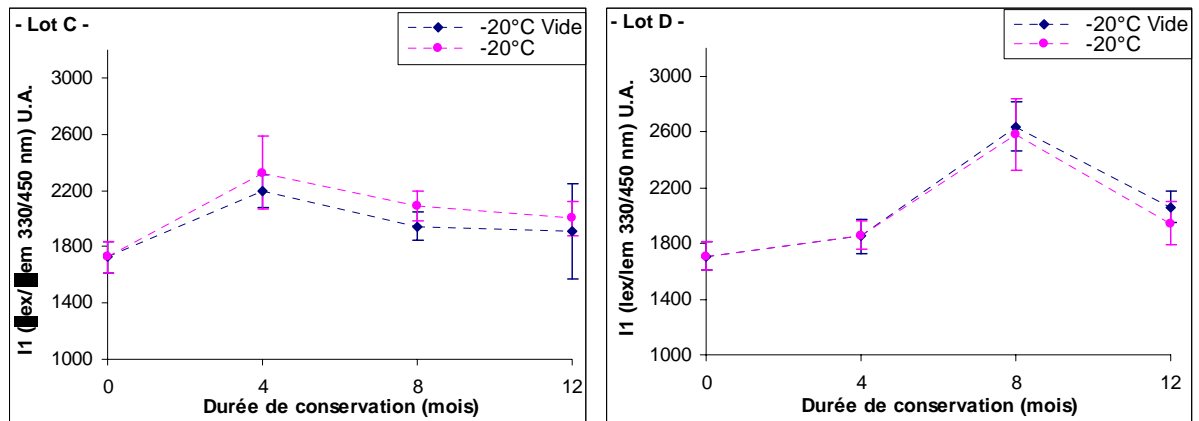


Figure 40 Evolution des intensités de fluorescence I1 ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}=330/450$ nm) au cours de la conservation à -20°C et -20°C sous vide de la pâte fabriquée à partir de chinchards frais (Lot C) ou conservés 36 heures sous glace (Lot D).

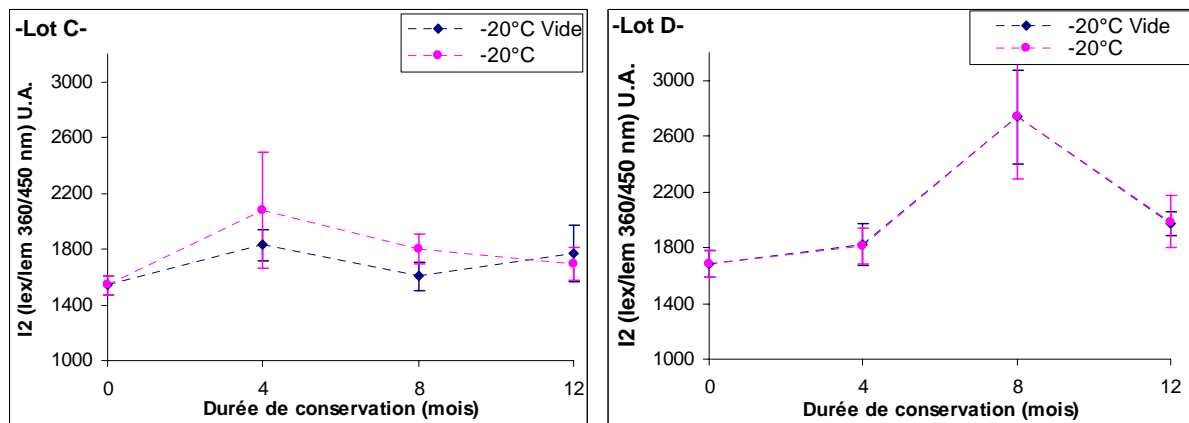


Figure 41 Evolution des intensités de fluorescence I2 ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}=360/450$ nm) au cours de la conservation à -20°C et -20°C sous vide de la pâte fabriquée à partir de chinchards frais (Lot C) ou conservés 36 heures sous glace (Lot D).

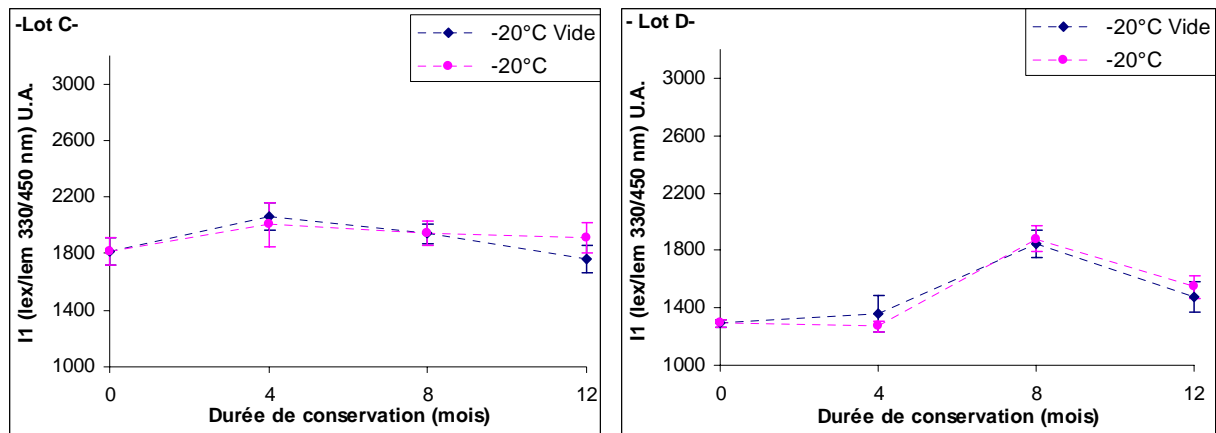


Figure 42 Evolution des intensités de fluorescence I1 ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}=330/450$ nm) au cours de la conservation à -20°C et -20°C sous vide du surimi fabriqué à partir de chinchards frais (Lot C) ou conservés 36 heures sous glace (Lot D).

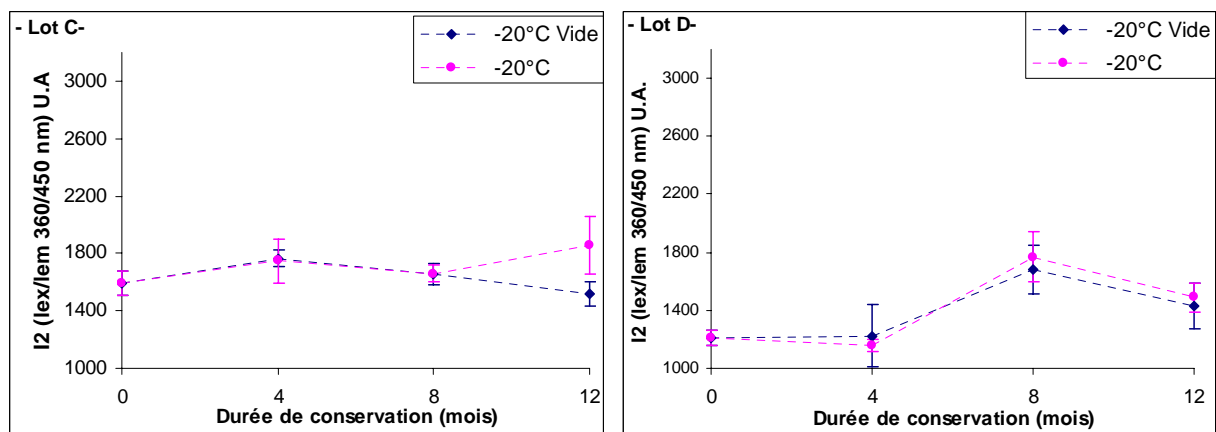


Figure 43 Evolution des intensités de fluorescence I2 ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}=360/450$ nm) au cours de la conservation à -20°C et -20°C sous vide du surimi fabriqué à partir de chinchards frais (Lot C) ou conservés 36 heures sous glace (Lot D).

aldéhydes (différents du malonaldéhyde) avec divers constituants aminés (Leake & Karel, 1985 ; Kikugawa et coll., 1987). Le troisième groupe présente des maxima d'excitation entre 370 et 405 nm et d'émission entre 450 et 470, nm ces composés sont formés par des réactions entre le malonaldéhyde et des molécules aminées (Chio & Tappel, 1969). Les composés du deuxième et du troisième groupes, correspondant au pics P2 et P3 observés, sont probablement ceux qui se forment au cours de la conservation du surimi à 20°C. Cependant, il est difficile d'attribuer une réaction précise à un composé fluorescent mesuré dans des systèmes différents. En effet, les longueurs d'onde d'excitation et d'émission maximales des composés fluorescents dépendent de l'espèce chimique présente mais également de l'environnement de ces composés.

II-2- Evolution des marqueurs de fluorescence au cours de la conservation à –20°C et –20°C sous vide des pâtes et des surimis de chinchards

Les spectres de fluorescence en mode frontal ont été réalisés sur la pâte et le surimi fabriqués à partir de chinchards frais ou conservés 36 heures sous glace. Au cours des douze mois de conservation seul le pic P1 est présent sur tous les spectres. Le pic P2 apparaît sous forme d'un épaulement au pic P1 sur certains des échantillons conservés 12 mois à –20°C (Figure 39). Le pic P3 observé pour du surimi très altéré n'apparaît sur aucun des spectres mesurés.

Afin de mieux visualiser l'évolution des composés fluorescents au cours de la conservation à –20°C et –20°C sous vide, les intensités de fluorescence ont été mesurées pour tous les échantillons à $\lambda_{ex}/\lambda_{em} = 330/450$ nm (I1) et $\lambda_{ex}/\lambda_{em} = 360/450$ nm (I2). Dans la plupart des cas, l'intensité I2 ne correspond pas à un pic mais sa valeur a été notée afin de suivre son évolution en tant que marqueur potentiel de l'altération.

Pour la pâte à T₀, les intensités de fluorescence I1 sont similaires que la pâte soit fabriquée à partir de chinchards frais ou conservés 36 heures sous glace (respectivement 1727 +/-112 et 1708 +/-99 U.A) (Figure 40 ; Annexe 9). Pour ces mêmes échantillons les valeurs initiales de I2 sont également proches : 1542 +/-69 et 1682 +/-97 U.A.(Figure 41 ; Annexe 10) Par contre, pour le surimi, les intensités de fluorescence de celui fabriqué à partir de chinchards frais sont plus élevées que celles obtenues à partir des chinchards conservés 36 heures sous glace (Figure 42 & 43, Annexe 10).

Les intensités de fluorescence obtenues pour la pâte et le surimi sont difficilement comparables dans la mesure où la pâte et le surimi ne présentent pas la même structure. Le surimi, qui correspond à de la pâte, texturée au moment de l'incorporation des cryoprotecteurs, présente un aspect plus pâteux et une texture plus fine que la pâte, or ces différences peuvent interférer sur les intensités des spectres de fluorescence.

Les évolutions des intensités de fluorescence I1 et I2 ne présentent pas de différence marquée quels que soit les paramètres étudiés (Figures 40-43). La présence de cryoprotecteurs ou de vide ne modifient pas les profils de courbes obtenus.

On observe cependant de faibles fluctuations de l'intensité de fluorescence au cours de la conservation. Ces variations pourraient résulter des modifications de texture des produits constatées au cours de la conservation. Les intensités de fluorescence (I1 et I2) de la pâte et du surimi fabriqués à partir de chinchards conservés 36 heures sous glace présentent un profil différent de ceux obtenus pour la pâte et le surimi de chinchards frais (Figures 40-43). En effet, pour le premiers, I1 et I2 augmentent entre 4 et 8 mois de conservation alors que pour les échantillons obtenus à partir de chinchards frais il n'y a pas de variation.

Les intensités de fluorescence I1 et I2 fluctuent au cours de la conservation, mais il n'y a pas de formation de composés fluorescents. La baisse des concentrations en hydroperoxydes et sr-TBA ne générerait donc pas la formation de composés fluorescents. Elle résulterait plutôt d'interactions non covalentes avec les protéines ne générant pas la formation de composés fluorescents. Afin de préciser le rôle éventuel des sr-TBA sur les protéines, la fluorescence des Trp a été suivie au cours de la conservation de la pâte et du surimi à -20°C et -20°C sous vide.

II-3- Evolution des intensités de fluorescence des résidus tryptophanyle au cours de la conservation à -20°C et -20°C sous vide des pâtes et des surimis de chinchards

Les spectres d'émission des Trp ont été réalisés pour une longueur d'onde d'excitation de 290 nm. Les intensités de fluorescence mesurées à $\lambda_{em} = 333$ nm mesurées à T0 dans la pâte ou le surimi fabriqués à partir de chinchards frais, respectivement 1707 +/-57 et 1754 +/- 56 sont supérieures à celles mesurées dans la pâte ou le surimi fabriqués à partir de chinchards conservés 36 heures sous glace, respectivement 1561 +/-63 et 1371 +/- 52 (Figure 44 & 45). Si ces résultats sont mis en parallèle avec les résultats obtenus pour les sr-TBA, il apparaît que

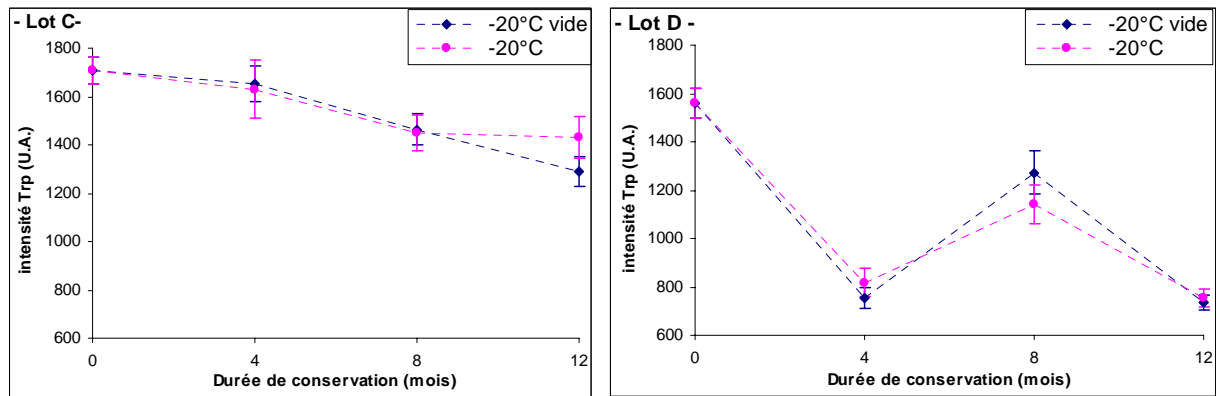


Figure 44 Evolution des intensités de fluorescence des Trp ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}=290/333$) nm au cours de la conservation à -20°C et -20°C sous vide de la **pâte** fabriquée à partir de chinchards frais (Lot C) ou conservés 36 heures sous glace (Lot D).

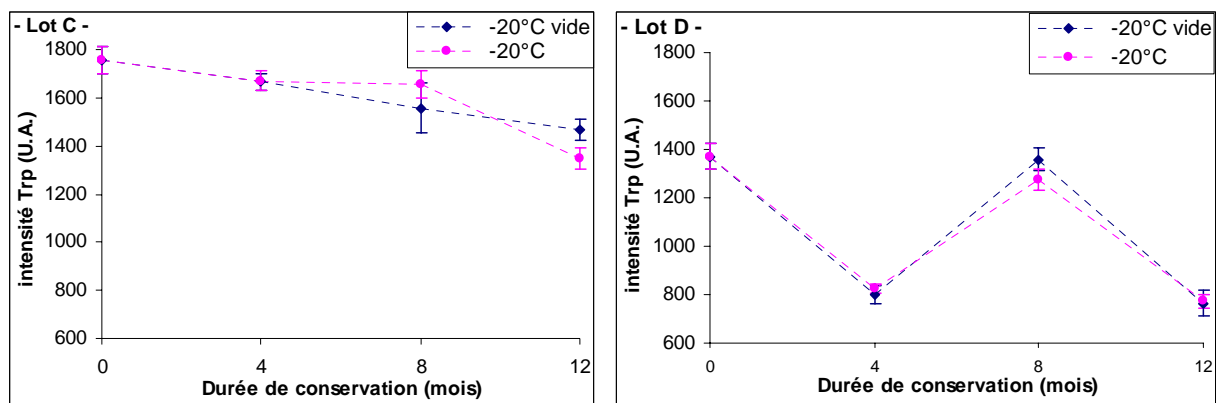


Figure 45 Evolution des intensités de fluorescence des Trp ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}=290/333$) nm au cours de la conservation à -20°C et -20°C sous vide du **surimi** fabriqué à partir de chinchards frais (Lot C) ou conservés 36 heures sous glace (Lot D).

l'intensité de fluorescence des Trp est d'autant plus faible que la concentration en sr-TBA est élevée. En effet, la concentration initiale en sr-TBA de la pâte fabriquée à partir de chinchards frais ou de chinchards conservés 36 heures sous glace est de 0,24 mg Eq MDA/kg et de 2,21 mg Eq MDA/kg tandis que les intensités de fluorescence sont respectivement de 1707 et 1561 U.A (Figures 44 & 45, Tableaux XXV & XXVI). De même pour le surimi, la concentration initiale en sr-TBA du surimi fabriqué à partir de chinchards frais ou de chinchards conservés 36 heures sous glace est de 0,46 mg Eq MDA/kg et de 1,76 mg Eq MDA/kg tandis que les intensités de fluorescence sont respectivement de 1754 et 1371 U.A (Tableaux XXV & XXVI). Il semble exister un lien entre les concentrations en sr-TBA et l'intensité de fluorescence des résidus tryptophanyle.

Au cours des douze mois de conservation de la pâte et du surimi fabriqué à partir de chinchards frais, l'intensité de fluorescence des Trp diminue (Figure 46 & 47). Au cours de la conservation de la pâte et du surimi de chinchard fabriqué à partir de chinchards conservés 36 heures sous glace, l'intensité de fluorescence des Trp diminue entre 0 et 4 mois de conservation. Une augmentation de cette intensité de fluorescence est observée entre 4 et 8 mois, celle-ci étant suivie d'une baisse de l'intensité de fluorescence entre 8 et 12 mois. Cette augmentation correspond à l'augmentation des intensités de fluorescence I1 et I2. Ces variations brutales des intensités de fluorescence ne sont pas expliquées, elles sont probablement liées à un problème d'expérimentation, les mesures étant réalisées à 4 mois d'intervalle.

Il n'apparaît pas de différences entre les évolutions des intensités de fluorescence obtenues pour les deux modes de conservation testés. La diminution de l'intensité de fluorescence entre T0 et T12 mois est nettement plus prononcée pour la pâte et le surimi fabriqués à partir de chinchards conservés 36 heures sous glace comparé à la pâte et au surimi fabriqués à partir de chinchards frais (Figures 44 & 45, Tableaux XXV & XXVI). L'intensité de fluorescence de la pâte de chinchard frais est diminuée de 16 à 20% après 12 mois de conservation alors que celle de la pâte fabriquée à partir de chinchards conservés 36 heures sous glace est diminuée de 53 à 52%. La même tendance est observée pour le surimi, l'intensité de fluorescence du surimi de chinchard frais est diminuée de 16 à 23% après 12 mois de conservation alors que celle du surimi fabriqué à partir de chinchards conservés 36 heures sous glace est diminuée de 43 à 44% (Tableaux XXV & XXVI, Figure 46 & 47). Les fortes diminutions des intensités de fluorescence des Trp observées pour les échantillons fabriqués à partir de chinchards conservés 36 heures sous glace correspondent au fortes diminution des sr-TBA. Ces évolutions semblent liées.

Ce phénomène de diminution de l'intensité de fluorescence des Trp a également été observé au cours de la conservation à 37°C et 47°C d'émulsions d'huile de tournesol stabilisées par la sérum albumine bovine (Rampon et coll., 2001 ; 2002). Plusieurs hypothèses peuvent être envisagées pour expliquer la baisse de l'intensité de fluorescence (quenching) des Trp.

Selon la première hypothèse, les Trp seraient directement touchés, ils seraient dégradés par des réactions d'oxydation induites par des molécules telles que les radicaux libres ou éventuellement les aldéhydes, produits par les réactions d'oxydation des lipides. Ces altérations se traduiraient par une modification du noyau indole induisant une perte de la propriété de fluorescence des résidus tryptophanyle.

Une autre hypothèse est basée sur une possibles extinction de la fluorescence des Trp sans dégradation directe de ces derniers. (i) Au cours de la conservation à l'état congelé, les protéines acquièrent des conformations particulières. Ces changements de conformation pourrait entraîner une modification de l'environnement des Trp et ainsi être à l'origine des diminutions de l'intensité des Trp. Cependant ces modifications devraient se caractériser par un déplacement du maximum de la longueur d'onde d'émission, or ce n'est pas le cas pour nos échantillons.

(ii) L'environnement des Trp pourrait être modifié indirectement par les sr-TBA qui sont susceptibles de réagir avec différentes chaînes latérales d'acides aminés, voisins des Trp. La modification de cet environnement se traduirait par une diminution de la fluorescence émise par les Trp. Cependant il est surprenant que ces interactions entre les produits secondaires de l'oxydation des lipides et les protéines n'aient pas généré de composés fluorescents. L'implication d'autres acides aminés tels que la cystéine, l'histidine, la lysine et la méthionine, sensibles aux réactions avec les produits d'oxydation des lipides, devra être déterminée.

(iii) Une autre hypothèse concerne la possibilité de fixation ou d'interactions hydrophobes entre les résidus tryptophanyle et des molécules résultant de l'oxydation des lipides, parmi lesquelles les sr-TBA. Ces interactions modifieraient les propriétés de fluorescence des résidus tryptophanyle, par un phénomène de quenching statique.

Afin de mieux comprendre ces phénomènes de diminution des concentrations en produits d'oxydation des lipides et des intensités de fluorescence des résidus tryptophanyle il sera nécessaire de réaliser des études en systèmes modèles permettant de mieux contrôler les paramètres et d'accélérer les réactions. Il faudra déterminer les modifications qui engendrent

une baisse de l'intensité de fluorescence des résidus tryptophanyle. Le dosage des tryptophanes permettrait par exemple de mettre en évidence une éventuelle dégradation de ces résidus. Des analyses de texture, directement liée à l'état des protéines permettra de suivre l'évolution de la dégradation des protéines au cours de la conservation et de déterminer s'il existe un lien avec la diminution de l'intensité de fluorescence des résidus tryptophanyle. Il sera également nécessaire d'identifier les composés fluorescents visualisés au cours de la conservation du surimi à 20°C. Les molécules générant ces composés devront également être déterminées.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La transformation des petits pélagiques gras en surimi apparaît comme la meilleure voie de valorisation de ces espèces mais présente certaines difficultés. La principale difficulté résulte de leurs fortes teneurs en acides gras polyinsaturés très sensibles aux réactions d'oxydation. Ces réactions induisent des dégradations des propriétés organoleptiques du produit au cours des procédés de transformation et de conservation.

L'objectif de cette étude était d'identifier les étapes critiques du procédé de transformation des chinchards, afin de proposer des solutions permettant de limiter le développement des réactions d'oxydation des lipides responsables de la dégradation du surimi au cours de sa fabrication et de sa conservation. Pour ce faire, trois expérimentations ont été conduites afin d'atteindre cet objectif. Ainsi après avoir déterminé le mode et de la durée de conservation des poissons avant transformation, les étapes critiques du procédé ont été identifiées et des propositions en vue d'améliorer le procédé ont été formulées. L'étude de la conservation du surimi à -20°C et -20°C sous vide a par la suite été réalisée afin de suivre l'évolution des caractéristiques biochimiques du produit au cours de sa conservation à l'état congelé.

Dans un premier temps les propriétés biochimiques de la matière première, son mode et sa durée maximale de conservation avant transformation ont été déterminés. Les cinétiques d'oxydation des lipides ont été suivies pour deux modes de conservation des chinchards : sous glace ou à température de bord d'un navire. Ces conditions de conservation reproduisent celles rencontrées dans le cadre d'une transformation des chinchards réalisée à terre ou à bord d'un navire usine. Au cours de la conservation sous glace ou à 17°C , les concentrations en produits primaires de l'oxydation des lipides, diènes conjugués et hydroperoxydes, fluctuent. Ces composés instables sont rapidement décomposés en produits secondaires, et sont donc difficilement quantifiables. La détermination des concentrations en sr-TBA, produits secondaires de l'oxydation des lipides, couplée à l'analyse sensorielle a permis de déterminer une durée maximale de conservation des chinchards pour laquelle le développement des réactions d'oxydation est limité. Au cours de la conservation à 17°C les réactions d'oxydation se développent très rapidement. Six heures après capture, la concentration en produits

secondaires de l'oxydation est élevée, le traitement à bord devra donc être réalisé avant ce délai. Pour les chinchards conservés sous glace, la production des composés secondaires d'oxydation des lipides apparaît après 36 heures, cette durée correspond au délai maximal acceptable avant transformation. Le développement des réactions d'oxydation des lipides étant très rapide à 17°C il est vivement conseillé de conserver les poissons sous glace.

Cette étude a également permis d'adapter et valider différentes méthodes d'analyses des lipides et de leurs produits d'oxydation. Les méthodes d'extraction des lipides, de détermination des diènes conjugués, et d'analyse des composés secondaires ont été validées et mises en place au laboratoire Génie Alimentaire. Au cours de ce travail une méthode de dosage des hydroperoxydes du chinchard ne nécessitant pas d'extraction lipidique préalable a été mise au point (Eymard & Genot, 2003). Par ailleurs, en complément des méthodes d'analyses biochimiques, l'analyse sensorielle est apparue comme une méthode pertinente pour déterminer le niveau d'oxydation des lipides de chinchards. En effet, les résultats de l'analyse sensorielle sont bien corrélés aux mesures des produits secondaires de l'oxydation des lipides. Par la suite, il serait intéressant de tenter de relier les résultats obtenus par analyse sensorielle à des données relatives aux composés volatils. Ces mesures pourraient permettre d'identifier et de quantifier les composés responsables d'odeur spécifique au cours du développement des réactions d'oxydation des lipides de poisson.

Dans un deuxième temps, les étapes critiques de la chaîne de transformation des chinchards et l'influence de la qualité de la matière première sur celle du surimi ont été déterminées. Nous avons ainsi montré que le premier facteur déterminant pour la qualité du surimi est la qualité de la matière première. Ainsi, les poissons doivent être transformés le plus rapidement possible après capture. Cependant, quelle que soit la qualité de la matière première, les réactions d'oxydation des lipides sont amorcées dès les premières étapes de transformation et s'amplifient par la suite. Dans le cas d'une matière première conservée 36 heures sous glace, les réactions d'oxydation des lipides sont déjà amorcées dans le muscle des poissons. Ces réactions s'amplifient alors très fortement dès le début de la transformation. Toutes les étapes du procédé sont impliquées dans le développement des réactions d'oxydation des lipides. Les étapes de lavage/essorage permettent l'élimination d'une fraction importante des lipides. La dernière étape d'essorage centrifuge se révèle particulièrement déterminante pour la qualité du produit final. En effet, à cette étape, une quantité importante des produits d'oxydation des lipides est éliminée.

D'après les résultats obtenus, il apparaît que la fraction de lipides polaires est plus difficilement éliminée que la fraction de lipides neutres au cours des lavages. Ainsi, la fraction des lipides totaux du surimi obtenu possède une proportion de phospholipides riches en acides gras polyinsaturés supérieure à celle des lipides de la matière première. Cependant la concentration en acides gras polyinsaturés dans le surimi reste assez faible dans la mesure où la teneur en lipides du surimi n'est que de l'ordre de 1%.

Suite au ciblage des étapes critiques et aux adaptations suggérées, des modifications techniques ont été apportées à la chaîne pilote. Le procédé modifié fait actuellement l'objet de transfert de savoir faire vers deux industriels. La chaîne de transformation ainsi optimisée permet de transformer des poissons gras mais également des poissons blancs. Des études complémentaires devront être réalisées concernant l'addition d'antioxydants en cours de procédé. Les étapes d'incorporation et la nature des molécules à utiliser devront être identifiées. Généralement, il est conseillé d'utiliser un mélange d'antioxydants intervenant à différents niveaux dans la chaîne de réaction de l'oxydation des lipides. Ainsi, un mélange à base de tocophérols (piégeurs de radicaux libres) et d'acide ascorbique (réducteur d'oxygène, régénérateur de l' α -tocophérol) peut être envisagée comme solution.

Au cours de la conservation à -20°C et -20°C sous vide du surimi et de la pâte, les concentrations en produits d'oxydation des lipides diminuent. Cette diminution résulterait de réactions de décomposition de ces produits et/ou d'interactions intervenant entre ces produits et les protéines. Afin de comprendre l'origine de ces diminutions la spectroscopie de fluorescence en mode frontale a été utilisée. Cette technique permet d'évaluer la formation de composés résultant d'interactions entre les produits d'oxydation des lipides et les protéines. En effet, lors de la conservation à $+20^{\circ}\text{C}$ du surimi, des pics de fluorescence qui pourraient correspondre à ces composés apparaissent. De fait, après 12 mois de conservation du surimi à -20°C ou -20°C sous vide il n'y a pas de formation de composés fluorescents. Par contre, l'intensité de fluorescence des résidus tryptophanyle des protéines diminue. Cette baisse est d'autant plus marquée que la concentration initiale en produits secondaires de l'oxydation des lipides (sr-TBA) est élevée. Il semblerait donc que les deux phénomènes soient liés. Il sera donc intéressant pour la suite de ce travail de pouvoir déterminer plus précisément l'influence de la concentration en sr-TBA sur l'évolution de l'intensité de fluorescence des résidus tryptophanyle.

Plusieurs hypothèses ont été envisagées afin d'expliquer la diminution de l'intensité de fluorescence des résidus tryptophanyle. La première hypothèse repose sur une oxydation

directe des résidus tryptophanyle induisant une destruction du noyau indole. Selon une deuxième hypothèse, il se produirait une extinction de la fluorescence de ces résidus après modification de leur environnement. Ces phénomènes devront être étudiés afin de comprendre les mécanismes impliqués. Les études en systèmes simplifiés peuvent être envisagées mais il sera également intéressant de poursuivre les investigations sur la matrice surimi. Pour ces études, en parallèle du suivi de l'oxydation des lipides et des molécules fluorescentes, il sera nécessaire d'étudier les modifications intervenant au niveau des protéines.

L'objectif de cette étude qui visait à identifier les étapes critiques du procédé de transformation des chinchards, afin de limiter le développement des réactions d'oxydation des lipides a été atteint. Des études complémentaires portant sur l'ajout d'antioxydants permettront d'obtenir un produit de qualité constante.

Les méthodologies mises en place lors de ce travail permettent une caractérisation des lipides et de leurs composés d'oxydation, dans le muscle de poisson et ses produits transformés, et sont actuellement utilisées en routine au laboratoire Génie Alimentaire.

La compréhension des mécanismes d'altération en systèmes simplifiés permettra une extrapolation aux systèmes alimentaires et devrait aboutir au contrôle de ces réactions, responsables de la dégradation biochimique des produits.

A

- Ackman, R.G. (1980) Fish lipids Part I. In *Advance in fish science and technology*, Fishing New Books, Ltd; Farnham, Surrey, England; 86-103.
- Ackman, R.G. (1994) Seafood lipids. In *Seafoods chemistry, processing technology and quality*. Shahidi, F.& Botta, J.R. (Eds.), Blackie Academic & professional, New York; 34-48.
- AOAC-American Oil Chemists' Society Method (1990) Peroxide Value of Oils and Fats; Titration Method. *AOAC Official Methods of Analysis* 956
- AOCS (1989) Peroxide value using chloroform. Official method Cd-8-53. In *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemist' Society*. 4th ed.
- Aubourg, S.P. (2001a) Fluorescence study of the pro-oxidant effect of free fatty acids on marine lipids. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **81** 385-390.
- Aubourg, S.P. (2001b) Damage detection in horse mackerel (*Trachurus trachurus*) during chilled storage. *Journal of the American Oil chemistry Society* **78** 857-862.
- Aubourg, S.P. and Gallardo, M. (1997) Fluorescence changes in amine model systems related to fish deterioration. *International Journal of Food Science and Technology* **32** 153-158.
- Aubourg, S.P. and Medina, I. (1999) Influence of storage time and temperature on lipid deterioration during cod (*Gadus morhua*) and haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) frozen storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **79** 1943-1948.
- Aubourg, S.P., Medina, I. and Gallardo, J.M. (1998a) Quality assessment of blue whiting (*Micromesistius poutassou*) during chilled storage by monitoring lipid damages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **46** 3662-3666.
- Aubourg, S.P., Medina, I. and Pérez-Martín, R. (1995) A comparison between conventional and fluorescence detection methods of cooking-induced damage to tuna fish lipids. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung*. **200** 252-255.

Aubourg, S.P., Sotelo, C.G. and Pérez-Martin, R. (1998b) Assessment of Quality Changes in Frozen Sardine (*Sardina pilchardus*) by Fluorescence Detection. *JAOCS* **75** 575-580.

Audley, M.A., Shetty, K.J. and Kinsella, J.E. (1978) Isolation and properties of phospholipase A from pollock muscle. *Journal of Food Science* **43** 1771-1775.

B

Bandarra, N.M., Batista, I., Nunes, M.L. and Empis, J.M. (2001) Seasonal variation in the chemical composition of horse-mackerel (*Trachurus trachurus*). *European Food Research Technology* **212** 535-539.

Bandarra, N.M., Batista, I., Nunes, M.L., Empis, J.M. and Christie, W.W. (1997) Seasonal changes in lipid composition of sardine (*Sardina pilchardus*). *Journal of Food Science* **62** 40-42.

Baron, C.P. and Andersen, H.J. (2002) Myoglobin-induced lipid oxidation. A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50** 3887-3897.

Basaga, H., Tekkaya, C. and Acikel, F. (1997) Antioxidative and Free Radical Scavenging Properties of Rosemary Extract. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie* **30** 105-108.

Béné, A., Fornage, A., Luisier, J.L., Pilcher, P. and Villettaz, J.C. (2001a) A new method for rapid determination of volatile substances: the SPME-direct method. Part I: Apparatus and working conditions. *Sensors and Actuators B*. **72** 184-487.

Béné, A., Hayman, A., Reynard, H.E., Luisier, J.L. and Villettaz, J.C. (2001b) A new method for the rapid determination of volatile substances: the SPME-direct method Part II. Determination of the freshness of fish. *Sensors and Actuators B* **72** 204-207.

Berset C. et Cuvelier M. E. (1996) Methods of estimating the degree of lipid oxidation and of measuring antioxidizing power. *Sciences des Aliments* **16** 219-245.

Bligh E.G. and Dyer W.J. (1959) A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* **37** 911-917.

- Body D.R. and Vlieg P. (1989) Distribution of the lipid classes and eicosapentaenoic (20:5) and docosahexaenoic (22:6) acids in different sites in blue mackerel (*Scomber australasicus*) fillets. *Journal of Food Science* **54** 569-572.
- Bostoglou, N.A., Fletouris, D.J., Papageorgiou, G.E., Vassilopoulos, V.N., Mantis, A.J. and Trakatellis, A.G. (1994) Rapid sensitive and specific thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in animal tissue, food and feedstuff samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **42** 1931-1937.
- Buedge, J.A. and Aust, S.D. (1978) Microsomal lipid peroxidation. In *Biomembranes (Part C: Biological Oxidation)*, *Methods in Enzymology*, Fleisher S.F. & Packer L. (Eds.) London Academic Press; Vol.52, 302-309.
- Burat, K.M. and Bozkurt, O. (1996) Improvement of calibration curve for determining peroxide values of food lipids by the modified ferrous oxidation-xylenol orange method. *Journal Of AOAC International* **79** 995-997.
- Burcham, P.C. and Kuhan, T. (1996) Introduction of carbonyl groups into proteins by the lipid peroxidation product, malonaldehyde. *Biochemical and Biophysical Communications* **220** 996-1001.
- Buss, H., Chan, T.P., Sluis, K.B., Domigan, N.M. and Winterbourn, C.C. (1997) Protein Carbonyl Measurement by a Sensitive ELISA Method. *Free Radical Biology and Medicine* **23** 361-366.

C

- Chapman, R.A. and Mackay, K. (1949) The estimation of peroxides in fats and oils by the ferric thiocyanate method. *The Journal of the American Oil Chemists' society* 360-363.

-
- Chen, H.H., Chiu, E.M. and Huang, J.R. (1997) Color and Gel-forming Properties of Horse Mackerel (*Trachurus japonicus*) as Related to Washing Conditions. *Journal of Food Science* **62** 985-991.
- Chio, K.S. and Tappel, A.L. (1969) Synthesis and characterisation of the fluorescent products derived from malonaldehyde and aminoacids. *Biochemistry* **8** 2821-2827.
- Commère, P.A. (2002) Surimi: rapport économique 2002. *ADEPALE*
- Corongiu, F.P. and Banni, S. (1994) Detection of conjugated dienes by second derivative ultraviolet spectrophotometry. *Methods in Enzymology* **233** 303-313.
- Corraze, G. and Kaushik, S. (1999) Les lipides des poissons marins et d'eau douce. *Oléagineux, Corps gras, Lipides* **6** (1), 111-115.

D

- Davis H. K. (1982) Fluorescence of Fish Muscle: Description and Measurement of Changes Occuring During Frozen Storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **33** 1135-1142.
- De Koning, A.J. and Mol, T.H. (1990) Rates of free fatty acid formation from phospholipids and neutral lipids in frozen cape hake (*Merlussia spp*) mince at various temperatures. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **50** 391-398.
- Decker, E.A. and Hultin, H.O. (1990) Nonenzymic Catalysts of Lipid Oxidation in Mackerel Ordinary Muscle. *Journal of Food Science* **55** 951-953.
- Decker, E.A. and Xu, Z. (1998) Minimizing rancidity in muscle food. *Food technology* **52** 54-61
- DeLong, J.M., Prange, R.K., Hodges, D.M., Forney, C., Bishop, M.C. and Quilliam, M. (2002) Using a modified ferrous oxidation-xylene orange (FOX) assay for detection of lipid hydroperoxydes in plant tissue. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50** 248-254.

-
- Dobarganes, M.C. and Velasco, J. (2002) Analysis of lipid hydroperoxides. *European Journal of Lipid Science and Technology* **104** 420-428.
- Dufour, E., Frenchia, J.P. and Kane, E. (2003) Development of a rapid method based on front-face fluorescence spectroscopy for the monitoring of fish freshness. *Food Research International* **36** (5) 415-423.
- Dumay, J. (2003) Contribution à l'analyse de lipides issus de biomasses marines en vue de la recherche de molécules à activité biologique. *Mémoire de l'Ecole Pratique des Hautes Etudes*
- Dyer, W.J. and Fraser, D.I. (1959) Proteins in Fish Muscle. 13. Lipid Hydrolysis. *Journal of Fisheries Research Board of Canada* **16** 43-52.

E

- Ekstrand, B., Gangby, I., Janson, R.M., Pettersson A. and Åkesson, G. (1993) Lipid stability related to development of herring mince products. *23rd annual WEFTA meeting, 12-15 september 1993, Göteborg, Sweden.*
- Eymard, S. and Genot, C. (2003) A modified xylenol orange method to evaluate formation of lipid hydroperoxides during storage and processing of small pelagic fish. *European Journal of Lipid and science technology* **105** 497-501.

F

- Folch, J., Lees, M. and Sloane Stanley, G.H.S. (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry* **226** 497-509.
- Frankel, E.N. (1998) Lipid oxidation. *The Oily Press (vol. 10)*. Dundee, Scotland. 10.

Frankel, E.N., Neff, W.E. and Weisleder, D. (1990) Determination of methyl linoleate hydroperoxides by ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Methods in Enzymology* **186** 380-387.

G

Gardner, H.W. (1979) Lipid hydroperoxide reactivity with proteins and amino acids: a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **27** 220-229.

Garthwaite, G.A. (1992) Chilling and freezing of fish *In Fish Processing Technology*. Hall, G.M (Ed.), Blackie Academic & Professional, New York; 89-113.

Genot, C. (1996) Some factors influencing TBA test. Report of diet-ox project (AIRIII-CT-92-1577).

Genot, C. (2000) Congélation et qualité de la viande. Techniques et pratiques, INRA Editions, Paris.

Genot, C., Meynier, A., Riaublanc, A. and Chobert, J.M. (2003) Protein Alterations Due to Lipid Oxidation in Multiphase Systems. In *Lipid oxidation pathways*, Kamal-Eldin A. (Ed.), AOACS Press Champaign, 265-292.

German, J.B. and Kinsella, J.E. (1985) Lipid oxidation in fish tissue. enzymatic initiation via lipoxygenase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **33** 680-683.

Grau, A., Codorny, R., Rafecas, M., Barroeta, A.C. and Guardiola, F. (2000) Lipid hydroperoxide determination in dark chicken meat through a ferrous oxidation-xylenol orange method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **48** 4136-4143.

Gray, J.I. (1978) Measurement of lipid oxidation: a review. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **55** 539-545.

Gray, J.I. and Monahan, F.J. (1992) Measurement of lipid oxidation in meat and meat products. *Trend in Food Sciences and Technology*. **3** 315-318.

Guillén, M.D. and Cabo, N. (1997) Infrared spectroscopy in the study of edible oils and fats.

Journal of the Sciences of Food and Agriculture. **75** 1-11.

Guillén-Sans, R. and Guzmán-Chozas (1998) The thiobarbituric acid (TBA) reaction in foods: A review. *Critical Reviews in Food science and Nutrition.* **38** 315-330.

Gutteridge J.M.C. & Halliwell B. (1990) The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends in Biochemical Sciences* **15** 129-135.

H

Haejung, A.N., Peters, M.Y. and Seymour, T.A. (1996) *Trends in Food Science & Technology* **7**

Hall, G.M. and Ahmad, N.H. (1992) Surimi and fish mince products. In *Fish Processing Technology*. Hall, G.M.(Ed.). Blackie Academic & Professional, New York; 72-88.

Han, T.-J. and Liston, J. (1987) Lipid peroxidation and phospholipid hydrolysis in fish muscle microsomes and frozen fish. *Journal of Food Science* **52**

Hasegawa, K., Endo, Y. and Fujimoto, K. (1992) Oxidative deterioration in dried fish model systems assessed by solid sample fluorescence spectrophotometry. *Journal of Food Science* **57** 1123-1126.

Hermes-Lima, M., Willmore, W.G. and Storey, K.B. (1995) Quantification of lipid peroxidation in tissue extracts based on Fe(III) xylenol orange complex formation. *Free Radical Biology & Medicine* **19** 271-280.

Holmes, K.L., Noguchi, S.F. and MacDonald, G.A. (1992) The Alaska Pollock Resource and Other Species Used for Surimi. In *Surimi Technology*, Lanier, T.C. & Lee, C.M. (Eds), Marcel Dekker, Inc, New York; 41-76.

Hsieh, R.J. and Kinsella, J.E. (1989a) Oxidation of polyunsaturated fatty acids: mechanisms, products, and inhibition with emphasis on fish. *Advances in Food and Nutrition Research.* **33** 233-341.

-
- Hsieh, R.J. and Kinsella, J.E. (1989b) Lipoxygenase Generation of Specific Volatile Flavor Carbonyl Compounds in Fish Tissues. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **37** 279-286.
- Huang, C.H., Hultin, H.O. and Jafar, S.S. (1993) Some aspects of Fe²⁺-catalysed oxidation in fish sarcoplasmic reticular lipid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **41** 1886-1892.
- Hultin, H.O. (1992) Lipid Oxidation in Fish Muscle. In *Advances in seafood biochemistry: Composition and quality* Flick, G.J. & Martin, R.E. (Eds.), Technomic Publishing Company Inc, Lancaster; 99-122.
- Hultin, H.O. (1994) Oxidation of lipids in seafoods. In *Seafoods: Chemistry, Processing Technology and Quality* . Shahidi, F. & Botta, J.R. (Eds), Blackie Academic & Professional, New York; 49-74.
- Hultin, H.O., Decker, E.A., Kelleher, S.D. and Osinchak, J.E. (1991) Control of lipid oxidation processes in minced fatty fish. In *Seafood Science and Technology*, E.G. Bligh (Ed.), Fishing News Books, Oxford; 93-100.
- Hultin, H.O. and Kelleher, S.D. (2000) Surimi processing from dark muscle fish. In *Surimi and surimi seafood*. Park, J.W. (Ed.), Marcel Dekker, Inc., New York; 59-77.
- Hwang, K.T. and Regeinstein, J.M. (1993) Characteristics of mackerel mince lipid hydrolysis. *Journal of Food Science*. **58** 79-83.

J

- Jacobsen, C. (1999) Sensory impact of lipid oxidation in a complex food systems. *Fett/Lipid* **101** 484-492.
- Jiang, S.T., Ho, M.L., Jiang, S.H., Lo, L. and Chen, H.C. (1998) Color and Quality of Mackerel Surimi as Affected by Alkaline Washing and Ozonation. *Journal of Food Science* **63** 652-655.
- Jiang, Z.Y., Hunt, J.V. and Wolff, S.P. (1992) Ferrous ion oxidation in the presence of

xylénol orange for detection of lipid hydroperoxide in low density lipoprotein. *Analytical Biochemistry* **202** 384-389.

Jiang, Z.Y., Woollard, A.C. and Wolff, S.P. (1991) Lipid hydroperoxide measurement by oxidation of Fe²⁺ in the presence of xylénol orange. Comparison with the TBA assay and an iodometric method. *Lipids* **26** 853-856.

Josephson, D.B. and Lindsay, R.C. (1986) Enzymic Generation of Volatile Aroma Compounds from Fresh Fish. *Biogenesis of Aromas* 201-219.

Josephson D.B., Lindsay, R.C., Stuibler, D.A. (1984) Variations in the occurrences of enzymically derived volatile aroma compounds in salt and freshwater fish. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **32** 1344-1347.

K

Kamal-Eldin, A. and Yanishlieva, N.V. (2002) N-3 fatty acids for human nutrition: stability considerations. *European Journal of Lipid Sciences and Technology* **104** 825-836.

Kamil, J.Y.V.A., Jeon, Y.-J. and Shahidi, F. (2002) Antioxidative activity of chitosans of different viscosity in cooked comminuted flesh of herring (*Clupea harengus*). *Food Chemistry* **79** 69-77.

Kanazawa, A., Sawa, T., Akaik, T. and Maeda, H. (2000) Formation of abasic sites in DNA by t-butyl peroxy radicals: implication for potent genotoxicity of lipid peroxy radicals. *Cancer Letters* **156** 51-55.

Kanner, J., German, J.B. and Kinsella, J.E. (1987) Initiation of lipid peroxidation in biological systems. *Food Science and Nutrition* **25** 317

Kansci, G., Genot, C., Meynier, A. and Gandemer, G. (1997) The antioxidant activity of carnosine and its consequences on the volatile profiles of liposomes during iron/ascorbate induced phospholipid oxidation. *Food Chemistry* **60** 165-175.

Ke, P.J., Ackman, R.G., Linke, B.A. and Nash, D.M. (1977) Differential lipid oxidation in various part of frozen mackerel. *Journal of Food Technology* **12** 37-47.

Kelleher, S.D., Hultin, H.O. and Wilhelm, K.A. (1994) Stability of mackerel surimi prepared

- under lipid-stabilizing processing conditions. *Journal of Food Science* **59** 269-271.
- Kelleher, S.D., Silva, L.A., Hultin, H.O. and Wilhelm, K.A. (1992) Inhibition of lipid oxidation during processing of washed, minced atlantic mackerel. *Journal of Food Science* **57** 1103-1108.
- Khayat, A. and Schwall, D. (1983) Lipid oxidation in seafood. *Food Technology* 130-140.
- Kikugawa, K. and Beppu, M. (1987) Involvement of lipid oxidation products in the formation of fluorescent and cross-linked proteins. *Chemistry and Physics of Lipids* **44** 277-296.
- Klein, R.A. (1970) The detection of oxidation in liposome preparations. *Biochemistry and Biophysic Acta* **210** 486-489.
- Kolthoff, I.M. and Medalia, A.I. (1951) Determination of organic peroxides by reaction with ferrous iron. *Analytical Chemistry* **23** 595-603.
- Kortenska, V.D., Yanishlieva, N.V., Kasaikina, O.T., Totzeva, I.R., Boneva, M.I. and Russina, I.F. (2002) Phenol antioxydant efficiency in various lipid substrates containing hydroxy compounds. *European Journal of Lipid Sciences and Technology* **104** 513-519.
- Koskas, J.P., Cillard, J. and Cillard, P. (1983) Direct high-performance liquid chromatographic separation of hydroperoxide isomers of linoleic acid. *Journal of Chromatographie* **258** 280-283.
- Krzynowek, Murphy, Parisier and Clifton (1990) Six Northwest Atlantic finfish species as a potential fish oil source. *Journal of Food Sciences* 1743-1744.

L

- Ladikos, D. and Lougovois, V. (1990) Lipid oxidation in muscle foods: a review. *Food Chemistry* **35** 295-314.

- Lanier, T.C. (1992) Measurement of Surimi Composition and Functional Properties. In *Surimi Technology*, Lanier, T.C. & Lee, C.M. (Eds), Marcel Dekker, Inc, New York; 123-163.
- Lea, C.H. (1946) The determination of the peroxide values of edible fats and oils: the iodometric method. *J. Soc. Chem. Ind.* **65** 286-291.
- Leake, L. and Karel, M. (1985) Nature of fluorescent compounds generated by exposure of protein to oxidizing lipids. *Journal of Food Biochemistry* **9** 117-136.
- Lee, C.M. (1984) Surimi Process Technology. *Food Technology* 69-80.
- Lee, J.S. (1992) Microbiological Considerations in Surimi Manufacturing. In *Surimi Technology*, Lanier, T.C. & Lee, C.M. (Eds.), Marcel Dekker, Inc, New York; 113-121.
- Levine, R.L., Garland, D., Oliver, C.N., Amici, A., Climent, I., Lenz, A.-G., Ahn, B.-W., Shaltiel, S. and Stadtman, E.R. (1990) Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology.* **186** 464-478.
- Linéaires (2003) Surimi: l'exception culinaire française. **182** 61
- Love, R.M. (1980) *The Chemical Biology of Fishes*. Vol.2. Academic Press London; 1968-1977.
- Lowry, R.R. and Tinsley, I.J. (1976) Rapid colorimetric determination of free fatty acids. *Journal of the American Oil Chemists' Society.* **53** 470-472.

M

- Mackie, I.M. (1993) The effects of freezing on flesh proteins. *Food Reviews international.* **9** 575-610.
- Mansfield, B. (2003) Fish, factory trawlers, and imitation crab: the nature of quality in the seafood industry. *Journal of Rural Studies* **19** 9-21.
- Medina, I., Sacchi, R., Giudicianni, I. and Aubourg, S. (1998) Oxidation in fish lipids during

thermal stress as studied by ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Journal of American Oil Chemist Society* **75** 147-154.

Medina, I., Satué-Gracia, M.T. and Frankel, E.N. (1999) Static headspace gas chromatographic analyses to determine oxidation of fish muscle lipids during thermal processing. *Journal of American Oil Chemist's Society* **76** 231-236.

N

Nishioka et coll (1990) Development of new leaching technology and a system to manufacture high quality frozen surimi. *Proceedings of the meeting of: Commission C2, Chilling and freezing of new fish products, International Institute of Refrigeration, Paris (France), Sept 18-20* 123-130.

NMFS (National Marine Fisheries Service) (2001) Personal communication from the National Marine Fisheries Service, Fisheries statistics and economic division, *Silver Spring, MD*.

Nourooz-Zadeh, J., Tajaddini-Sarmadi, J., Birlouez-Aragon, I. and Wolff, S.P. (1995) Measurement of hydroperoxides in edible oils using the ferrous oxidation in xylenol orange assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **43** 17-21.

Nunes, M.L. and Batista, I.a.M.d.C.R. (1992a) Physical, chemical and sensory analysis of sardine (*Sardina pilchardus*) stored in ice. *Journal of Science and Food Agriculture* **59** 37-43.

Nunes, M.L., Cardinal, M., Mendes, R., Campos, R.M., Bandarra, N.M., Lourenço, H. and Jerome, M. (1992b) Effect of season and storage on proteins and lipids of sardine (*Sardina pilchardus*) minces and surimi. In *Quality Assurance in the Fish Industry*. H.H. Huss, M. Jakobsen, and Liston (Eds.), Elsevier Science Publishers B.V, Amsterdam. 73-79.

O

OFIMER and CFCE (2003) Le marché du surimi dans l'Union Européenne. *Centre Français du Commerce Extérieur, Direction Produits et Matériels Agro-Alimentaires*

Okada, M. (1992) History of Surimi Technology in Japan. In *Surimi Technology* Lanier, T.C. & Lee, C.M. (Eds). Marcel Dekker, Inc, New York; 3-21.

P

Park, J.W., Lanier, T.C. and Green, D.P. (1988) Cryoprotective effects of sugar, polyols, and/or phosphates on Alaska Pollock surimi. *Journal of Food Sciences* **53** 1-3.

Park, J.W. and Morrissey, M.T. (2000) Manufacturing of surimi from light muscle fish. In *Surimi and surimi seafood*, Park J.W. (Ed.), Marcel Dekker, Inc, New York; 23-59.

Passi, S., Cataudella, S., Di Marco, P., De Simone, F. and Rastrelli, L. (2002) Fatty Acid Composition and Antioxidant Levels in Muscle Tissue of Different Mediterranean Marine Species of Fish and Shellfish. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50** 7314-7322.

Peral, I. and Gartzia, I. Valorisation of under-utilised fish species from the cantabrian sea by means of surimi and derived seafood products production. Trans Atlantic Fisheries Technology Conference 2003 10-14 juin 2003 Reykjavik, Islande edn. (2003)

Pokorny, J. (1977) Interactions of oxidized lipids with protein. *La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse* **IV** 389-393.

Prost, C., Hallier, A., Cardinal, M., Courcoux, P. (2002) Contribution of sensory and olfactometry analysis to discriminate the aroma of different species of seafood products analysed at three states of freshness. Proceedings of the 10th Weurman Flavour Research Symposium, Le Queté J.L. & Etievaut P.X. (Eds), Lavoisier Publisher, 24-28 june 2002, Beaune, France.

Pszczola D.E. (2001) Antioxidants : from preserving food quality to quality of life. *Food Technology*. **55** 51-59.

Q

Quéro, J.C. and Vayne, J.J. (1997) Les poissons de mer des pêches françaises. In *Les encyclopédies du naturalistes*, Delachaux et Niestlé, Paris.

R

Rampon, V., Lethuaut, L., Mouhous-Riou, N. and Genot, C. (2001) Interface characterization and aging of bovine serum albumine stabilized oil-in-water emulsion as revealed by front-surface fluorescence. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **49** 4046-4051.

Rampon, V., Mouhous-Riou, N. and Genot, C. (2002) Protein modifications at the interface during short-term oxidation of emulsions as revealed by front-surface fluorescence. in Recent research developments in agricultural and food chemistry: food emulsion and dispersion, Anton M. & Pandalaï S.G. (Eds.), research Signpost, Kerala (India) 93-102.

Refsgaard, H.H.F., Brockhoff, P.M.B. and Jensen, B. (2000) Free Polyunsaturated Fatty Acids Cause Taste Deterioration of Salmon during Frozen Storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **48** 3280-3285.

Rhee K.S. (1988) Enzymic and nonenzymic catalysis of lipid oxidation in muscle foods. *Food Technology* 127-132.

Richards, M.P., Kelleher, S.D. and Hltin, H.O. (1998) Effect of washing with or without antioxidants on quality retention of mackerel fillrts during refrigerated and frozen storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **46** 4363-4371.

Rose, D.P. and Connolly, J.M. (1999) Omega-3 fatty acids as cancer chemopreventive

agents. *Pharmacology & Therapeutics* **83** 217-244.

Ruíz, A., Cañada, M.J.A. and Lendl, B. (2001) A rapid method for peroxide value determination in edible oils based on flow analysis with Fourier transform infrared spectroscopic detection. *The Analyst* **126** 242-246.

S

Saeed S. and Howell N. K. (2001) 12-Lipoxygenase activity in the muscle tissue of atlantic mackerel (*scomber scombrus*) and its prevention by antioxidants. *Journal of the science of Food and Agriculture* **81** 745-750.

Salih A.M., Smith D.M., Price J.F. and Dawson L.E. (1987) Modified extraction 2-thiobarbituric acid method for measuring lipid oxidation in poultry. *Poultry science* **66** 1483-1488.

Sergent, O., Morel, I., Cogrel, P., Chevanne, M., Beaugendre, M., Cillard, P. and Cillard, J. (1993) Ultraviolet and infrared spectroscopy for microdetermination of oxidized and unoxidized fatty acyl esters in cells. *Analytical Biochemistry* **211** 219-223.

Shantha N.C. and Decker E.A. (1994) Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. *Journal Of AOAC International* **77** 421-424.

Shenouda, S.Y.K. (1980) Theories of protein denaturation during frozen storage of fish flesh. *Advances in Food Research* **26** 275-311.

Sheridan, M.A. (1988) Lipid dynamics in fish: aspects of absorption, transportation, deposition and mobilisation. *Comp Biochemistry and Physiology* **90B** 679-690.

Shewfelt, R.L. (1981) Fish muscle lipolysis-A review. *Journal of food Biochemistry* **5** 79-100.

- Shimizu, Y., Toyohara, H. and Lanier, T.C. (1992) Surimi production from fatty and dark-fleshed fish species. In *Surimi Technology*, Lanier, T.C. & Lee, C.M. (Eds). Marcel Dekker, Inc, New York; 181-207.
- Simeonidou, S., Govaris, A. and Varelziz, K. (1998) Quality assessment of seven Mediterranean fish species during storage on ice. *Food Research International* **30** 479-484.
- Spencer, K.E. and Tung, M.A. (1994) Surimi processing from fatty fish. In *Seafoods: Chemistry, Processing Technology and Quality*, Shahidi, F. & Botta, J.R. (Eds.) Blackie Academic & Professional; 288-319.
- Stewart J.C. (1980) Colorimetric determination of phospholipids with ammonium ferrothiocyanate. *Analytical biochemistry* **104** 10-14.
- Sultanbawa, Y. and Li-Chan, E.C.Y. (1998) Cryoprotective effects of sugar and polyol blends in ling cod surimi during frozen storage. *Food Research International* **31** 87-98.
- Sun, Q., Faustman, C., Senecal, A., Wilkinson, A.L. and Furr, H. (2001) Aldehyde reactivity with 2-thiobarbituric acid and TBARS in freeze-dried beef during accelerated storage. *Meat Science* **57** 55-60.
- Suzuki, T. and Watabe, S. (1986) New processing technology of small pelagic protein. *Food Review International* **2** 271-307.
- Sych, J., Lacroix, C., Adambounou, L.T. and Castaigne, F. (1990) Cryoprotective Effects of Some Materials on Cod-Surimi Proteins during Frozen Storage. *Journal of Food Science* **55** 1222-1227.

T

- Tamato, K., Tanaka, O., Takeda, F., Fukumi, T. and Nishiya, K. (1961) Study on freezing of Alaska pollock surimi and its applications. IV- on the effect of sugar upon the keeping quality of frozen Alaska pollock meat. *Bulletin of Hokkaido Regular Research in Laboratory* **23** 50-60.
- Toyoda, K., Kimura, I., Fujita, T., Noguchi, S.F. and Lee, C.M. (1992) The surimi manufacturing process. In *Surimi Technology* Lanier, T.C. & Lee, C.M. (Eds). Marcel Dekker, Inc, New York; 79-112.

U

- Undeland, I. and Hall, G.a.L.H. (1999) Lipid oxidation in fillets of herring (*Clupea harengus*) during ice storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **47** 524-532.
- Undeland, I., Hultin, H.O. and Richards, M.P. (2002a) An aqueous fraction of cod muscle inhibits hemoglobin-mediated oxidation of cod muscle membrane lipids. *32nd Annual WEFTA Meeting, May 13th-15th, Galway (Ireland)* 90

V

- Van Kuijk, F.J., Thomas, D.W., Stephens, R.J. and Dratz, E.A. (1990) Gas chromatography-mass spectrometry assays for lipid peroxides. *Methods in Enzymology* **186** 388-398.
- Vareltzis, K., Koufidis, D., Gavriilidou, E., Papavergou, E. and Vasiliadou, S. (1997) Effectiveness of a natural Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract on the stability of filleted and minced fish during frozen storage. *Z Lebensm Unters Forsch A* **205** 93-96.
- Vincke, W. (1970) Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. *Fette Seifen Anstrichm* **72** 1084-1096.

W

- Wang, B., Pace, R.D., Dessai, A.P., Bovell-Benjamin, A. and Phillips, B. (2002) Modified Extraction Method for Determining 2-Thiobarbituric Acid Values in Meat with Increased Specificity and Simplicity. *Journal of Food Science* **67** 2833-2836.
- Wold, J.P. (2000) Rapid quality assessment of meat and fish by using near-infrared spectroscopy autofluorescence spectroscopy and image analysis. *Thesis of Agricultural University of Norway, ISSN 0802-3220*
- Wolff, S.P. (1994) Ferrous ion oxidation in presence of ferric ion indicator xylenol orange for measurement of hydroperoxides. *Methods in Enzymology* **233** 182-189.

Y

- Yang, G.C., Qiang, W., Morehouse, K.M., Rosenthal, I., Ku, Y. and Yurawecz, P. (1991) Determination of hydroperoxides in edible oils by electron spin resonance, thiobarbituric acid assay, and liquid chromatography-chemiluminescence techniques. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **39** 896-898.
- Yildiz, G., Wehling, R.L. and Cuppett, S.L. (2003) Comparison of Four Analytical Methods for the Determination of Peroxide Value in Oxidised Soybean Oils. *Journal American Oil Chemist Society* **80** 103-107.
- York, R.K. and Sereda, L.M. (1994) Sensory assessment of quality in fish and seafoods. In *Seafoods: chemistry, processing technology and quality*. Shahidi, F. & Botta, J.R. (Eds.), Blackie Academic & Professional, Glasgow (UK). 233-262.

Annexe 1 : Protocole d'extraction des lipides selon la méthode de Bligh & Dyer (1959).

Protocole d'extraction des lipides (Bligh & Dyer, 1959)

5g de broyat de filets de chinchard sont mis à imbiber dans 50 mL de méthanol pendant 30 minutes. Le mélange est homogénéisé (homogénéisateur), en présence de 25 mL de chloroforme ou de dichlorométhane et 16 mL d'eau distillée, pendant 5 minutes. Après addition de 25 mL de chloroforme ou de dichlorométhane, le mélange est homogénéisé durant 1 minute. 25 mL d'eau distillée sont ajoutés et le mélange est de nouveau homogénéisé 1 minute. Après filtration sur verre fritté N°3 le filtrat est mis à décanter une nuit à 4°C. La phase organique inférieure est récupérée et évaporée sous vide. L'extrait obtenu est pesé puis repris dans 10 mL de benzène/éthanol (4/1) et conservé à -20°C. Le taux de lipides est exprimé en g de lipides pour 100 g de chair de poisson (g /100 g).

Annexe 2 : Teneurs en lipides obtenues pour la chair des filets de chinchard selon deux méthodes d'extraction et l'utilisation de deux solvants. Les teneurs en lipides sont exprimées en g de lipides pour 100 g de chair MH. Des lettres différentes indiquent des résultats significativement différents ANOVA ($p < 0,05$) ($n=3$).

Solvants	Chloroforme		Dichlorométhane	
	Bligh & Dyer	Folch	Bligh & Dyer	Folch
Extraction 1	4,71	4,61	4,42	4,23
Extraction 2	4,72	4,68	4,48	4,37
Extraction 3	4,83	4,64	4,45	4,81
Moyenne	4,75 a	4,64 a	4,45 b	4,47 b

Annexe 3 Evolution des compositions en acides gras (g/100g d'esters méthyliques d'acides gras identifiés) des lipides totaux de filets prélevés au cours de la conservation des chinchards sous glace (Lot A) ou à 17°C (Lot B).

Temps (heures)	Conservation sous Glace										Conservation à 17°C			
	0	6	12	24	36	48	60	Moyennes	0	6	12	24	Moyennes	
C14:0	5.7 +/-0.1	10.7 +/-0.9	8.9 +/-0.3	10.1 +/-1.4	5.4 +/-0.1	6.5 +/-0.2	7.6 +/-0.2	7.8 +/-2.1	8.6 +/-0.4	8.8 +/-0.1	9.1 +/-0.3	8.6 +/-0.2	8.7 +/-0.2	
C16:0	23.0 +/-0.6	23.2 +/-1.4	23.9 +/-1.2	21.4 +/-1.8	25.0 +/-1.1	24.0 +/-0.2	25.5 +/-0.9	23.7 +/-1.3	22.7 +/-0.7	23.5 +/-0.5	22.8 +/-0.3	23.0 +/-0.3	23.0 +/-0.4	
C18:0	6.2 +/-0.1	4.7 +/-0.2	5.7 +/-0.2	4.5 +/-0.1	6.8 +/-0.2	6.3 +/-0.1	5.7 +/-0.1	5.7 +/-0.8	4.5 +/-0.1	4.1 +/-0.1	4.1 +/-0.1	4.3 +/-0.1	4.3 +/-0.2	
Σ Saturés	34.9 +/- 0.7	38.6 +/-1.1	38.6 +/-1.4	36.1 +/-3.2	37.2 +/-1.3	36.8 +/-0.4	38.7 +/-1.2	37.3 +/-1.4	35.8 +/-0.5	36.4 +/-0.7	36.0 +/-0.4	35.8 +/-0.3	36.0 +/-0.3	
C16:1ω7	6.3 +/-0.6	6.5 +/-0.3	9.0 +/-0.5	7.0 +/-0.5	6.6 +/-0.2	7.3 +/-0.1	7.0 +/-0.2	7.1 +/-0.9	5.9 +/-0.4	5.4 +/-0.3	5.2 +/-0.3	5.6 +/-0.4	5.5 +/-0.3	
C18:1ω12	0.3 +/-0.0	0.6 +/-0.0	0.4 +/-0.1	0.5 +/-0.0	0.4 +/-0.2	0.2 +/-0.1	0.3 +/-0.0	0.4 +/-0.3	0.5 +/-0.0	0.5 +/-0.1	0.5 +/-0.1	0.3 +/-0.1	0.4 +/-0.1	
C18:1ω9	15.0 +/-1.0	15.0 +/-0.7	14.9 +/-0.6	12.1 +/-0.2	21.9 +/-1.1	17.4 +/-0.1	16.8 +/-0.3	16.1 +/-3.0	12.9 +/-0.4	12.3 +/-0.1	11.7 +/-0.4	13.0 +/-0.9	12.5 +/-0.6	
C18:1ω6	8.3 +/-0.7	7.1 +/-0.2	7.0 +/-0.5	6.0 +/-0.2	8.8 +/-0.2	9.8 +/-0.1	8.5 +/-0.3	7.9 +/-1.3	5.8 +/-0.2	5.5 +/-0.1	5.4 +/-0.3	5.8 +/-0.2	5.6 +/-0.2	
C20:1ω12	0.4 +/-0.0	0.6 +/-0.0	0.4 +/-0.0	1.0 +/-0.7	0.2 +/-0.0	0.1 +/-0.0	0.3 +/-0.0	0.4 +/-0.3	0.7 +/-0.5	0.5 +/-0.0	0.4 +/-0.0	0.5 +/-0.0	0.5 +/-0.1	
C22:1ω9	1.3 +/-0.3	1.3 +/-0.1	1.4 +/-0.8	0.9 +/-0.4	0.6 +/-0.2	0.5 +/-0.0	0.8 +/-0.2	1.0 +/-0.4	1.0 +/-0.5	0.4 +/-0.1	0.5 +/-0.0	0.5 +/-0.1	0.6 +/-0.3	
C24:1ω9	0.4 +/-0.1	0.1 +/-0.0	<0.1	0.2 +/-0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.3 +/-0.2	0.5 +/-0.1	0.6 +/-0.1	0.6 +/-0.1	0.5 +/-0.1	
Σ MonoInsaturés	32.0 +/-1.9	31.2 +/-0.8	38.6 +/-1.4	27.6 +/-0.3	38.5 +/-1.4	38.7 +/-1.2	33.6 +/-0.6	33.1 +/-3.4	27.1 +/-1.1	25.2 +/-0.0	24.4 +/-0.9	26.3 +/-1.0	25.7 +/-1.2	
C16:2ω4	0.1 +/-0.0	0.3 +/-0.0	0.4 +/-0.0	0.3 +/-0.2	0.2 +/-0.0	1.7 +/-1.0	0.3 +/-0.0	0.5 +/-0.6	0.4 +/-0.0	0.4 +/-0.0	0.3 +/-0.0	0.4 +/-0.0	0.4 +/-0.0	
C18:2ω6	0.9 +/-0.0	1.3 +/-0.0	0.9 +/-0.0	1.1 +/-0.0	0.9 +/-0.0	1.1 +/-0.1	1.2 +/-0.1	1.1 +/-0.2	1.6 +/-0.9	1.4 +/-0.0	1.4 +/-0.0	1.3 +/-0.0	1.4 +/-0.1	
C18:3ω3	0.7 +/-0.0	0.7 +/-0.1	0.3 +/-0.1	0.6 +/-0.1	0.3 +/-0.0	0.4 +/-0.0	0.5 +/-0.1	0.5 +/-0.2	0.8 +/-0.1	0.8 +/-0.0	0.9 +/-0.1	0.8 +/-0.0	0.8 +/-0.1	
C18:4ω3	4.8 +/-0.1	7.9 +/-0.3	5.9 +/-1.0	10.1 +/-0.1	2.4 +/-0.7	1.7 +/-0.0	3.3 +/-0.2	5.2 +/-3.1	9.0 +/-0.6	10.5 +/-0.1	10.6 +/-0.6	9.9 +/-0.3	10.0 +/-0.7	
C20:3ω3	0.8 +/-0.1	0.4 +/-0.1	0.5 +/-0.1	0.4 +/-0.1	0.9 +/-0.0	0.9 +/-0.1	0.6 +/-0.1	0.6 +/-0.2	0.6 +/-0.2	0.4 +/-0.0	0.4 +/-0.0	0.4 +/-0.1	0.4 +/-0.1	
C20:4ω3	3.4 +/-0.2	6.5 +/-0.7	6.3 +/-0.4	10.5 +/-2.3	1.8 +/-0.1	2.1 +/-0.0	3.9 +/-0.3	5.0 +/-3.1	9.4 +/-1.7	11.4 +/-0.5	10.7 +/-0.5	9.8 +/-0.3	10.3 +/-0.9	
C20:5ω3	7.4 +/-0.2	5.6 +/-0.1	6.6 +/-0.4	5.3 +/-0.2	8.0 +/-0.8	7.6 +/-0.4	7.1 +/-0.0	6.8 +/-1.0	5.8 +/-0.5	5.4 +/-0.2	5.8 +/-0.2	5.9 +/-0.2	5.7 +/-0.2	
C22:5ω3	1.6 +/-0.2	0.7 +/-0.2	0.8 +/-0.2	0.9 +/-0.2	1.3 +/-0.2	1.2 +/-0.1	1.1 +/-0.1	0.1 +/-0.1	0.8 +/-0.2	0.7 +/-0.0	0.8 +/-0.0	0.8 +/-0.1	0.8 +/-0.1	
C22:6ω3	13.3 +/-1.7	6.7 +/-0.5	6.5 +/-0.6	7.0 +/-0.6	8.5 +/-1.1	10.9 +/-0.6	9.7 +/-0.9	8.9 +/-2.5	8.7 +/-1.7	7.5 +/-0.3	8.7 +/-0.2	8.6 +/-0.5	8.4 +/-0.6	
Σ PolyInsaturés	33.1 +/-2.6	30.2 +/-1.7	28.3 +/-1.8	36.3 +/-3.0	24.3 +/-2.7	27.6 +/-0.7	27.7 +/-1.4	29.6 +/-4.0	37.1 +/-1.5	38.4 +/-0.7	39.6 +/-1.2	37.9 +/-1.1	38.2 +/-1.0	
Teneur Lipides (g/100g Pfrais)	6.1 +/-0.7	7.0 +/-0.1	5.1 +/-0.3	7.0 +/-0.7	5.5 +/-0.9	3.9 +/-0.2	5.2 +/-0.8	5.3 +/-1.2	10.4 +/-0.9	9.4 +/-0.3	9.8 +/-0.4	8.8 +/-0.6	9.6 +/-0.7	

Annexe 4 : Teneurs en eau, en lipides et en phospholipides des chinchards « frais » (Lot C) et des chinchards conservés 36 heures sous (Lot D) et de leurs produits transformés.

		Teneur en eau (g/100 g)	Teneur en lipides (g/100 g MH)	Phospholipides (g/100g lipides)
Filets	Lot C	76.3 ± 0.1 a	4.9 ± 0.1 a	11.3 ± 0.1 a
	Lot D	79.0 ± 0.1 b	2.1 ± 0.1 b	10.1 ± 1.7 a
Surimi	Lot C	76.8 ± 0.1 a	1.0 ± 0.1 c	20.8 ± 1.1 b
	Lot D	76.9 ± 0.1 a	0.9 ± 0.0 c	28.5 ± 0.8 c

Annexe 5 : Teneurs en produits primaires de l'oxydation des lipides des chinchards frais (Lot C) et des chinchards conservés 36 heures sous glace (Lot D) et de leurs produits transformés.

		Indice Diènes [A ₂₃₃ /A ₂₁₄]	Concentrations en hydroperoxydes		
			(mmoles/kg MH)	(mmoles/kg MS)	(µmoles/g lipides)
Filets	Lot C	0,21 ± 0,01 a	0,75 ± 0,1 a	3,16 ± 0,4 b	15,3 ± 2,1 a
	Lot D	0,19 ± 0,02 a	0,55 ± 0,02 a	2,6 ± 0,1 b	26,1 ± 1,1 b
Surimi	Lot C	0,21 ± 0,01 a	0,28 ± 0,04 b	1,21 ± 0,2 a	27,3 ± 3,8 b
	Lot D	0,34 ± 0,03 b	0,35 ± 0,04 b	1,5 ± 0,2 a	38,5 ± 4,4 c

Annexe 6 : Teneurs en produits secondaires de l'oxydation des lipides des chinchards « frais » et « Glace 36 h » et de leurs produits transformés.

		sr-TBA		
		(mg/kg MH)	(mg/kg MS)	(µg/g lipides)
Filets	Lot C	0,41 ± 0,05 a	1,74 ± 0,2 b	8,4 ± 1,1 a
	Lot D	0,28 ± 0,01 b	1,3 ± 0,2 a	12,3 ± 0,7 b
Surimi	Lot C	0,46 ± 0,01 a	1,96 ± 0,03 b	44,2 ± 0,8 c
	Lot D	1,76 ± 0,10 c	7,6 ± 0,4 c	195,2 ± 11,04 d

Annexe 7 : Concentrations en hydroperoxydes (mmoles Eq CuOOH/kg MH) et en sr-TBA (mg Eq MDA/kg MH) de la pâte fabriquée à partir de chinchards « frais » (Lot C) ou de chinchards conservés sous glace 36 heures (Lot D), au cours de la conservation à -20°C et -20°C sous vide.

-Lot C-		Pâte de chinchards « frais »	
	Hydroperoxydes (mmoles/kg MH)	sr-TBA (mg/kg MH)	
T0	0,22 ± 0,03	0,24 ± 0,02	
4 mois -20°C vide	0,13 ± 0,01	0,24 ± 0,03	
4 mois -20°C	0,23 ± 0,02	0,29 ± 0,02	
8 mois -20°C vide	0,17 ± 0,02	0,15 ± 0,01	
8 mois -20°C	0,07 ± 0,01	0,19 ± 0,03	
12 mois -20°C vide	0,07 ± 0,01	0,13 ± 0,03	
12 mois -20°C	0,06 ± 0,01	0,12 ± 0,01	

-Lot D-		Pâte de chinchards conservés 36 heures sous glace	
	Hydroperoxydes (mmoles/kg MH)	sr-TBA (mg/kg MH)	
T0	0,25 ± 0,03	2,21 ± 0,13	
4 mois -20°C vide	0,12 ± 0,01	0,97 ± 0,11	
4 mois -20°C	0,05 ± 0,01	1,15 ± 0,08	
8 mois -20°C vide	0,13 ± 0,01	1,27 ± 0,08	
8 mois -20°C	0,11 ± 0,01	1,21 ± 0,07	
12 mois -20°C vide	0,11 ± 0,03	1,02 ± 0,02	
12 mois -20°C	0,12 ± 0,02	1,18 ± 0,09	

Annexe 8 : Concentrations en hydroperoxydes (mmoles Eq CuOOH/kg MH) et en sr-TBA (mg Eq MDA/kg MH) du surimi fabriqué à partir des chinchards « frais » (Lot C) ou conservé 36 heures sous glace (Lot D), au cours de la conservation à –20°C et –20°C sous vide.

-Lot C-

Surimi de chinchards « frais »

	Hydroperoxydes (mmoles/kg MH)	sr-TBA (mg/kg MH)
T0	0,28 ± 0,04 a	0,46 ± 0,01 a
4 mois –20°C vide	0,33 ± 0,03 b	0,28 ± 0,01 cd
4 mois –20°C	0,29 ± 0,08 a	0,33 ± 0,03 b
8 mois –20°C vide	0,22 ± 0,02 c	0,23 ± 0,05 ef
8 mois –20°C	0,22 ± 0,01 c	0,31 ± 0,07 bc
12 mois –20°C vide	0,23 ± 0,02 c	0,21 ± 0,04 f
12 mois –20°C	0,22 ± 0,02 c	0,26 ± 0,06 de

-Lot D-

Surimi de chinchards conservés sous glace

	Hydroperoxydes (mmoles/kg MH)	sr-TBA (mg/kg MH)
T0	0,35 ± 0,04 a	1,76 ± 0,10 a
4 mois –20°C vide	0,34 ± 0,02 a	0,86 ± 0,04 c
4 mois –20°C	0,32 ± 0,02 ab	0,78 ± 0,03 cd
8 mois –20°C vide	0,29 ± 0,02 b	0,62 ± 0,05 e
8 mois –20°C	0,29 ± 0,03 b	0,71 ± 0,07 d
12 mois –20°C vide	0,24 ± 0,03 c	0,78 ± 0,07 d
12 mois –20°C	0,21 ± 0,03 c	0,94 ± 0,08 b

Annexe 9 : Intensités de fluorescence en mode frontal mesurées à $\lambda_{ex}/\lambda_{em}=330/450$ nm (I1) et $\lambda_{ex}/\lambda_{em}=360/450$ nm (I2) et rapport de ces intensités de fluorescence (I2/I1) obtenus au cours de la conservation de la pâte de chinchard fabriquée à partir de chinchards frais (A) ou conservés 36 heures sous glace (B). (n=10)

-Lot C-	Pâte de chinchards frais	
	Intensitésde fluorescence	
	I1 : $\lambda_{ex}/\lambda_{em}=330/450$ nm	I2 : $\lambda_{ex}/\lambda_{em}=360/450$ nm
T0	1727 ± 112	1542 ± 69
4 mois -20°C vide	2192 ± 116	1831 ± 112
4 mois -20°C	2327 ± 263	2077 ± 417
8 mois -20°C vide	1945 ± 101	1605 ± 104
8 mois -20°C	2091 ± 109	1803 ± 109
12 mois -20°C vide	1912 ± 341	1770 ± 205
12 mois -20°C	2000 ± 121	1694 ± 118

-Lot D-	Pâte fabriquée avec des chinchards conservés 36 heures sous glace	
	Intensitésde fluorescence	
	I1 : $\lambda_{ex}/\lambda_{em}=330/450$ nm	I2 : $\lambda_{ex}/\lambda_{em}=360/450$ nm
T0	1708 ± 99	1682 ± 97
4 mois -20°C vide	1850 ± 123	1824 ± 149
4 mois -20°C	1858 ± 101	1813 ± 130
8 mois -20°C vide	2637 ± 175	2739 ± 338
8 mois -20°C	2579 ± 255	2738 ± 443
12 mois -20°C vide	2061 ± 114	1964 ± 90
12 mois -20°C	1945 ± 157	2067 ± 188

Annexe 10 : Intensités de fluorescence mesurées à $\lambda_{ex}/\lambda_{em}=330/450$ nm (I1) et $\lambda_{ex}/\lambda_{em}=360/450$ nm (I2) obtenues au cours de la conservation du surimi de chinchard fabriqué à partir de chinchards frais (Lot C) ou conservés 36 heures sous glace (lot D). (n=10)

-Lot C-		
Surimi de chinchards frais		
Intensitésde fluorescence		
	I1 : $\lambda_{ex}/\lambda_{em}=330/450$ nm	I2 : $\lambda_{ex}/\lambda_{em}=360/450$ nm
T0	1815 ± 101	1596 ± 85
4 mois -20°C vide	2064 ± 94	1765 ± 61
4 mois -20°C	2007 ± 154	1746 ± 149
8 mois -20°C vide	1940 ± 73	1653 ± 72
8 mois -20°C	1943 ± 82	1661 ± 59
12 mois -20°C vide	1760 ± 97	1522 ± 85
12 mois -20°C	1916 ± 108	1856 ± 205

-Lot D-		
Surimi fabriqué avec des chinchards conservés sous glace		
Intensitésde fluorescence		
	I1 : $\lambda_{ex}/\lambda_{em}=330/450$ nm	I2 : $\lambda_{ex}/\lambda_{em}=360/450$ nm
T0	1291 ± 26	1208 ± 56
4 mois -20°C vide	1361 ± 127	1224 ± 217
4 mois -20°C	1270 ± 40	1161 ± 43
8 mois -20°C vide	1845 ± 97	1679 ± 170
8 mois -20°C	1882 ± 93	1768 ± 173
12 mois -20°C vide	1475 ± 109	1433 ± 158
12 mois -20°C	1545 ± 76	1488 ± 96