INSTITUT FRANÇAIS DE RECHERCHE

POUR L'EXPLOITATION DE LA MER

CENTRE DE NANTES

rue de l'Ile d'Yeu
BP 1049
44037 NANTES CEDEX

LABORATOIRE "CARACTERISTIQUES DES PRODUITS".

CONTRIBUTION AUX ESSAIS D'ADDITION DES CRYOPROTECTEURS DANS LA PULPE DE POISSON

Rapport des travaux réalisés
dans le cadre du Contrat
CNEXO N° 84/3117

Ewa Cegielska - Lukomska

janvier 1985

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier Monsieur Henri DURAND, Directeur du Département "Utilisation et Valorisation des Produits de la Mer" à l'IFREMER ainsi que Monsieur HAN-CHING qui a suivi cette étude.

Je les remercie ici de leur bienveillance et de leur soutien.

Je remercie également l'ensemble du personnel du Département "Utilisation et Valorisation des Produits de la Mer" pour leur aide et la sympathie qu'ils m'ont témoignée.

P L A N

INTRODUCTION 1

MATERIELS ET METHODES 5

1. Substances chimiques utilisées 5
1.1. Dans les essais in vitro
1.2. Dans les essais de pulpe
1.3. Dans les essais de pulpe avec du rein

2. Appareils utilisés 6

3. Essais in vitro 6
3.1. Préparation des échantillons
3.2. Mesure de l'indice de solubilité des protéines

4. Essais dans la pulpe 7
4.1. Préparation des échantillons
4.2. Mesures de l'indice de solubilité des protéines
4.3. Mesures de la capacité émulsifiante des protéines
4.4. Mesures de l'indice texturométrique

5. Essais dans la pulpe avec du rein 8
5.1. Préparation des échantillons
5.2. Mesures de l'indice de solubilité (proposée par l'IFREMER)
5.3. Mesures de l'indice de solubilité (proposée par l'USTL)
5.4. Mesures de pourcentage de diméthylamine
5.5. Mesures de l'azote volatil total
5.6. Mesures de la triméthylamine
5.7. Mesures de l'oxyde de triméthylamine
5.8. Mesures de l'indice texturométrique
5.9. Mesures de la couleur

./.

RESULTATS ET DISCUSSIONS 13

CONCLUSIONS 16

TABLEAUX ET FIGURES

BIBLIOGRAPHIE

INTRODUCTION

Pour le commerce extérieur des produits de la pêche maritime, la France présente un déficit important.

Dans le cas de la production de cabillaud (Gadus morhua) les importations nettes se sont élevées en 1982 à 44 387 T avec une valeur globale de 565 858 M F tandis que la production nationale était de 21 685 T (Comité Central des Pêches maritimes, 1983).

Le filetage traditionnel du poisson de fond à la machine conduit à l'obtention de filets représentant 40 à 50 % du poids du poisson selon sa taille, l'état de fraîcheur et la phase de maturation de gonades (KOLAKOWSKI E., 1984).

Le traitement des déchets de filetage par les séparateurs mécaniques permet la récupération de 6 à 10 % de chair hachée par rapport au poids du poisson entier.

Les arêtes et la chair sont pressées contre une surface cylindrique percée de trous de 1,5 à 5 mm de diamètre (BAADER 694 et 695).

La chair pressée traverse les trous mais les arêtes et la peau avec les écailles sont retenues.

La chair de poisson se présente sous forme de pulpe, elle est évacuée du cylindre par une vis sans fin.

Préparée à bord dans de bonnes conditions d'hygiène, la pulpe de poisson devrait présenter les caractéristiques bactériologiques et nutritionnelles proches de celles des filets, et convenir parfaitement pour l'alimentation humaine.

Cependant, la pulpe, surtout préparée à partir des déchets présente plusieurs inconvénients, dont le principal est sa dénaturation rapide à l'état congelé.

La désagrégation du glycogène et de substances hautement énergétiques se produit beaucoup plus rapidement dans la chair hachée congelée, que dans les filets (NOWLAN S.S., DYER W.J., 1974) ainsi que le clivage enzymatique de l'oxyde de triméthylamine

en diméthylamine et en formaldéhyde.

Le formaldéhyde se lie avec les protéines ; il baisse alors la solubilité des protéines dont l' agrégation est favorisée. On observe alors une altération de la texture finale et des propriétés fonctionnelles du produit (CASTELL C.H., SMITH B DYER W.J., 1973).

Pendant le stockage à - 40°C l'augmentation de formaldéhyde et la réaction entre le formaldéhyde et les protéines se font très lentement et ne posent pas de problèmes technologiques lorsque la durée de conservation n'est pas trop prolongée.

Pour des températures plus élevées la désagrégation de l'oxyde de triméthylamine est beaucoup plus rapide.

L'oxyde de triméthylamine est un composant musculaire naturel chez les poissons et les mammifères marins, avec toutefois une exception pour les poissons d'eau douce où il est inexistant ou en très faibles quantités (DYER W.J., 1952 ; HARADA K. et YAMADA K., 1974).

Chez les Gadidae le niveau de formaldéhyde et de diméthylamine formés est beaucoup plus élevé que chez les autres espèces (CASTELLI C.H., SMITH B., DYER W.J., 1973, DYER W.J., 1974), car les enzymes responsables de ce clivage sont très actives (AMANO K, YAMADA K., 1964, YAMADA K. et all, 1969, TOKINAGA T., 1970, DYER W.J., HILTZ D.F., 1974, HILTZ D.F. et col. 1976).

Pour obtenir la pulpe de bonne qualité il faut bien éliminer toute la partie du rein et les caillots de sang. Si ceci n'est pas réalisé, les mécanismes de changements chimiques non désirés sont accélérés et la stabilité à l'entreposage à l'état congelé est diminuée (KOLAKOWSKI. E, 1984).

Les changements dûs à la dénaturation atteignent la structure secondaire des protéines, en particulier les groupements - SH qui se lient aux protéines déjà dénaturées pour former des agrégats insolubles.

La dénaturation touche surtout les protéines myofibrillaire les protéines sarcoplasmiques étant très peu insolubilisées à l'état congelé.

./.

Les effets se manifestent sur :

- le changement de solubilité des protéines
- la perte d'élasticité
- l'inaptitude à retenir l'eau.

En 1951, DYER a suggéré que l'on pouvait protéger les protéines par des lipides, des acides gras, des composés nucléique et des hydrates de carbone.

Actuellement on appelle "cryoprotecteur" des substances qui ralentissent, retardent ou inhibent la dénaturation des protéines.

Il existe plusieurs sortes de cryoprotecteurs :

- les polyphosphates.

Ils sont très utilisés dans la technologie alimentaire pour augmenter la capacité d'hydratation des aliments protéiques.

Ils peuvent retarder la perte de solubilité des protéines et possèdent une capacité texturisante (DENG J.J., TOMASZEWSKI F.B 1979).

- les acides aminés et les peptides.

Ils augmentent l'effet cryoprotecteur par acétylation des groupes aminés (NOGUSHI S., MATSUMOTO J., 1975) ou quand le groupe aminé est remplacé par un groupe hydroxyle.

L'effet cryoprotecteur des peptides donne le même résultat que celui des acides aminés.

- les céto-acides.

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

- les polyalcools et les sucres.

On peut diminuer la vitesse de dénaturation dans le poisson congelé en utilisant le glycérol. LOVE (1965) a traité les filets de cabillaud avec du glycérol avant de les congeler. Il a trouvé que la proportion d'eau transformée en glace diminuait et qu'il y avait aussi diminution de la dénaturation des protéines.

La présence du glycérol permet de maintenir une certaine quantité d'eau liée aux protéines myofibrillaires (SIKORSKI, 1971).

./.

Pour pallier le problème de la dénaturation, l'addition de cryoprotecteurs dans la pulpe avant congélation a été testée dans de nombreux pays.

Le sujet de ce travail est l'étude des combinaisons de cryoprotecteurs dans la pulpe à partir des arêtes centrales de cabillaud. Dans une seconde partie le comportement d'une combinaison de cryoprotecteurs en présence de certains pourcentages de reins sera plus particulièrement étudié.

MATERIELS ET METHODES

1. Substances chimiques et concentrations utilisées.

1.1. Dans les essais in vitro.

Substances chimiques	Origine	% (g/100 g de pulpe
Citrate trisodique	MERCK	0,5
Pyrophosphate de sodium	MERCK	0,5
Pyruvate de sodium	MERCK	0,5

1.2. Dans les essais de pulpe.

Substances chimiques	Origine	Pourcentage
Sirop de glucose (Flolys R-43 FAS)	ROQUETTE	3
Sorbitol (Neosorb 20/60)	ROQUETTE	3
Maltodextrine MD05	ROQUETTE	5
Pyruvate de sodium	MERCK	0,5
Citrate trisodique	MERCK	0,5
Glutamate de sodium	MERCK	0,5
Pyrophosphate de sodium	MERCK	0,5
Hexamétaphosphate	MERCK	0,5
Acide éthylène diamine tétraacétique EDTA	ALDRICH	0,15

1.3. Dans les essais de pulpe avec du rein.

Substances chimiques	Origine	Pourcentage
Sorbitol (Neosorb 20/60)	ROQUETTE	3
Pyrophosphate de sodium	MERCK	0,5

./.

2. Appareils utilisés.

Désarêteuse BAADER 694.
Pétrin mélangeur type SAMA B 20
Congélateur à plaques type PLATE JUNIOR SAMIFI BABCOCK
Broyeur WARING
Centrifugeuse CENTRIKON H - 401

3. Essais in vitro.

3.1. Préparation des échantillons.

On prépare les solutions des protéines myofibrillaires du poisson en broyant 20 g de cabillaud avec 200 ml d'une solution de NaCl à 5 % dans un bol broyeur muni d'une ceinture réfrigérée avec un plateau anti-mousse.

Le broyat est ensuite centrifugé à 2 500 tours/mn pendant 30 mn.

1,5 ml du surnageant est additionné à 0,5 ml d'une solution de cryoprotecteur (s).

Les solutions finales de 2 ml sont congelées dans des tubes à hémolyse et stockées à - 20°C.

L'indice de solubilité est mesuré périodiquement pendant 14 semaines.

3.2. Mesure de l'indice de solubilité des protéines.

2 ml d'échantillon sont décongelés rapidement sous l'eau courante et dilués avec 4 ml de solution de NaCl à 5 % (ou de l'eau distillée pour le témoin), puis centrifugés à 2 500 tours/mn pendant 30 mn.

1 ml de surnageant est dilué avec 4 ml de la même solution.

On mesure la densité optique à 275 nm. L'indice de solubilité des protéines myofibrillaires solubles dans les solutions salines est exprimé en unité de densité optique.

./.

4. Essais dans la pulpe.

4.1. Préparation des échantillons.

La pulpe est récupérée à partir d'arêtes centrales de cabillaud préalablement brossées et lavées à l'eau courante afin d'éliminer le mieux possible les résidus de rein et de rate avant passage dans la désarêteuse (diamètre cylindre : 5 mm).

Les échantillons témoins sont congelés immédiatement après la séparation mécanique.

Pour les autres échantillons, les cryoprotecteurs, en solution, sont ajoutés à raison de 100 ml par kg de pulpe, puis mélangés à la pulpe pendant 5 mn dans un pétrin mélangeur.

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

La congélation se fait dans un congélateur à plaques à - 40°C pendant 90 mn et l'entreposage en chambre froide à - 18°C. Les mesures se font sur des échantillons décongelés pendant 24 H à + 4°C. On fera une analyse hebdomadaire pendant 5 semaines.

4.2. Mesure de l'indice de solubilité.

3 g de pulpe sont broyés avec 120 ml d'une solution de NaCl à 5 % dans un broyeur réfrigéré muni d'un plateau anti-mousse, puis centrifugés à 2 500 tours/mn pendant 30 mn à + 4°C. 1 ml du surnageant est dilué avec 4 ml d'une solution de NaCl à 5 %.

On mesure la densité optique de cette solution à 275 nm

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

Etant donné que l'addition des cryoprotecteurs "dilue" la pulpe, les résultats des échantillons avec cryoprotecteurs sont corrigés afin d'effectuer une comparaison réelle par rapport au témoin.

4.3. Mesure de la capacité émulsifiante des protéines.

La mesure se fait d'après le principe décrit par SWIFT et all (1961) sur un extrait de protéines musculaires.

5 g de pulpe sont broyés avec 150 ml d'une solution de NaCl à 5 % à + 4°C puis centrifugés à 2 500 tours/mn pendant

./.

30 mn à + 4°C. 5 ml de l'extrait sont dilués avec 50 ml d'une solution de NaCl à 5 % à environ + 20°C dans un bécher de 400 ml.

L'émulsion est réalisée à l'aide d'un mixeur ULTRA TURRAX fonctionnant à vitesse maximum (environ 20000 tours/mn). L'addition d'huile se fait à l'aide d'une burette de 50 ml (6 à 10 ml/mn.)

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

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

4.4. Mesure de l'indice texturométrique.

20 g de pulpe sont tassés dans un bécher standardisé de 25 ml. La cuisson se fait à 100°C pendant 20 mn.

Après refroidissement (température de la chambre) et égouttage, les échantillons sont soumis à un test de compression en utilisant le texturomètre JJ. LOYD T 5001 dans les conditions suivantes :

- jauge de contrainte de 5 000 N
- sensibilité de la jauge de contrainte X 0,04
- vitesse de la tête mobile : 200 mm/mn
- rapport papier/tête mobile : 2,5/1

L'indice texturométrique est défini par la formule :

$$E = 100 \times \frac{M'}{FLP} \quad (cm^2/N)$$

avec : L (cm) : la hauteur du cylindre de poisson cuit
F (N) : la résistance du cylindre à sa mi-hauteur
M' (g) : masse de l'échantillon après cuisson et égouttage
p : densité du cylindre $\cong 1 + \frac{2}{M'}$ (NECIBI M.,1982)

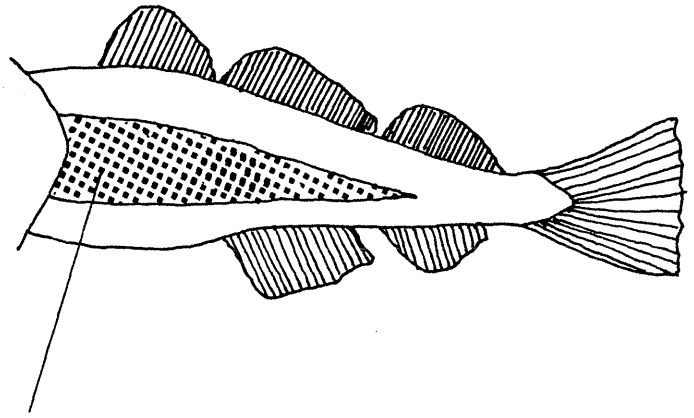
5. Essais dans la pulpe avec du rein.

5.1. Préparation des échantillons.

On utilise la pulpe del'arête centrale de cabillaud récupérée à partir de séparateur mécanique équipé d'un cylindre aux perforations de 5 mm de diamètre. 2/3 de la partie antérieure de l'arête centrale sont éliminés avant passage dans la désarêteuse

./.

conformément au schéma ci-dessous (où se trouve des tissus de rein et de rate).



Ces organes sont riches en enzymes catalysant la formation de formaldéhyde et diméthylamine à partir de l'oxyde de triméthylamine à l'état congelé.

On ajoute les différentes quantités de rein et le mélange de deux cryoprotecteurs (sorbitol + pyrophosphate).

On mélange 3 mn au pétrin, on répartit dans des barquettes de 200 g, on congèle à - 40°C pendant 90 mn dans un congélateur à plaques, puis on entrepose en chambre froide à - 18°C.

On fera périodiquement une analyse pendant 2 mois.

Les mesures se font sur des échantillons décongelés pendant 24 H à + 4°C.

5.2. Mesure de l'indice de solubilité (proposée par l'IFREMER).

2 g de pulpe sont broyés avec 80 ml d'une solution de NaCl à 5 % dans un broyeur muni d'un plateau anti-mousse, puis centrifugés à 2 500 tours/mn pendant 30 mn à + 4°C.

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

On mesure la densité optique de cette solution à 275 nm.

L'indice de solubilité est exprimé en unité de densité optique et en pourcentage de protéines dans la pulpe (g /100 g) pour comparer avec la méthode suivante.

./.

La courbe étalon est établie avec du sérum albumine bovine dans le tampon NaCl à 5 %.

Les valeurs de densité optique sont corrigées pour pallier la "dilution" de la pulpe comme en 4.2.

5.3. Mesure de l'indice de solubilité.

Méthode proposée par U.S.T.L. (Université des Sciences et Techniques du Languedoc).

8 g de pulpe sont broyés avec 80 ml d'une solution de $NaHCO_3$ 0,01 M dans un broyeur WARING muni d'un plateau anti-mousse, puis centrifugés à 8 500 tours/mn pendant 5 mn à + 4°C.

1 ml du surnageant (protéines sarcoplasmiques) est dilué avec 4 ml d'une solution de $NaHCO_3$ 0,01 M.

On mesure la densité optique de cette solution à 275 nm. (courbes étalons établies avec le sérum albumine bovine dans le tampon $NaHCO_3$).

Le culot est dilué avec 80 ml d'une solution de $NaHCO_3$ 0,01 M et NaCl 0,86 M puis soumis à l'agitation magnétique pendant 30 mn.

Ensuite le surnageant est centrifugé à 8 500 tours/mn pendant 5 mn à + 4°C. 2 ml du surnageant (protéines myofibrillaires) est dilué avec 4 ml d'une solution de $NaHCO_3$ 0,01 M et NaCl 0,86 M.

On mesure la densité optique de cette solution à 275 nm (courbes étalons établies avec le sérum albumine bovine dans le tampon $NaHCO_3$ - NaCl.)

La solubilité est exprimée en gramme d'azote par 100 g de pulpe.

5.4. Mesure du pourcentage de diméthylamine (DMA).

La méthode de dosage utilisée est celle de DYER et MOUNSEY (1945).

50 g de pulpe sont broyés pendant 1 mn avec 50 ml d'eau distillée et 100 ml d'acide trichloracétique.

Après filtration une partie d'extrait est diluée à 10 ml ; On y ajoute 1 ml de réactif à base de cuivre* et 10 ml d'une solution de sulfure de carbone à 5 % dans le benzène. La réaction

* Réactif à base de cuivre : 20 g d'acétate d'amonium (CH_3COONH_4)
0,2 g de sulfate de cuivre ($CuSO_4$)
30 ml d'eau distillée
10 g d'hydroxyde de sodium (NaOH) dans 25 ml d'eau distillée
20 ml d'hydroxyde de sodium (NH_4OH) amenés à 10(

colorimétrique se fait au bain-marie à 40 - 50°C pendant 5 mn.

Le mélange est très fortement agité à l'aide d'un agitateur mécanique pendant 15 mn

1 ml d'acide acétique à 30 % est additionné. La phase benzène est séchée avec environ 0,4 g de sulfate de sodium anhydre et sa densité optique est mesurée à 440 nm.

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

5.5. Mesure de l'azote volatil total ABVT par méthode de Conway.

Dans la chambre centrale de cellule de Conway on ajoute 1 ml d'acide borique mélangé avec l'indicateur coloré (vert bromocrésol + rouge méthyle) et dans la chambre extérieure 1 ml de défécat trichloracétique*.

On ajoute 1,5 ml d'eau distillée, on couvre partiellement avec le couvercle graissé de façon à assurer ultérieurement l'étanchéité de l'enceinte.

On additionne rapidement 1 ml de solution saturée de K_2CO_3. On ferme et on met dans un incubateur pendant 2 H à 37°C.

On titre par HCL 0,01 N

Les résultats sont exprimés en quantité d'azote dans la pulpe en mg/100 g.

5.6. Mesure de la triméthylamine TMA.

La même technique que pour ABVT en remplaçant 0,5 ml d'eau par 0,5 ml de formol neutralisé.

Les résultats sont exprimés en quantité d'azote dans la pulpe en mg/100 g.

* On utilise le même extrait que pour le dosage de DMA.

./.

5.7. Mesure de l'oxyde de triméthylamine TMA-O.

Cas de dosage de TMA-O. La même technique que pour ABVT mais on ajoute 0,7 ml d'eau distillée, 0,5 ml de formol et 0,3 ml $TiCL_3$.

Les résultats sont aussi exprimés en quantité d'azote dans la pulpe en mg/100 g.

5.8. Mesure de l'indice texturométrique.

voir 4.4.

5.9. Mesure de la couleur.

La couleur est mesurée à l'aide d'un appareil PHOTOVOLT REFLECTION METER 670.

La pulpe est tassée dans une cellule colorimétrique.

On mesure une valeur de la réflection avec chacun des trois filtres - bleu, ambre et vert. On convertit ces mesures en valeur tristimulus d'après la CIE.

C'est à dire : x, y, Y

$$X = \frac{0,8\ A^* + 0,18\ B^*}{100} \quad ; \quad Y = \frac{V^*}{100} \quad ; \quad Z = \frac{1,18\ B}{100}$$

$$x = \frac{X}{(X + Y + Z)} \quad ; \quad y = \frac{Y}{(X+Y+Z)}$$

La couleur est mesurée après 8 et 13 semaines de stockage.

A : ambre B : bleu V* : vert

RESULTATS & DISCUSSION

Les essais ont été faits sur des solutions de protéines musculaires pour compléter l'étude réalisée par VERREZ (1984).

Les résultats de ces essais in vitro sont résumés sur la figure 1.

Le degré de dénaturation est évalué par l'indice de solubilité.

Le pyrophosphate et le pyruvate montrent un effet cryoprotecteur très marqué que TRAN et HAN-CHING (1981), VERREZ (1984) avaient déjà noté.

De même les mélanges citrate-pyrophosphate et citrate-pyruvate ralentissent de façon notable la vitesse d'insolubilisation des protéines.

Au regard de ces résultats et de ceux de VERREZ on a envisagé certaines combinaisons dans la pulpe.

Les résultats dans la pulpe de cabillaud obtenus avec quatre séries d'additifs sont présentés dans les tableaux 1 à 3.

On remarque que le degré de dénaturation n'est pas toujours le même pour le témoin. La différence de qualité de la matière première (provenance et conservation des poissons utilisés) explique en partie les variations observées. On ne peut pas comparer les résultats entre des séries différentes, mais à l'intérieur de chaque série, les comparaisons sont toujours valables.

Dans le tableau 1, l'indice de solubilité des protéines dans la pulpe diminue rapidement dès la deuxième semaine d'entreposage.

L'indice de solubilité est un bon indicateur pour montrer le niveau de dénaturation des protéines et même s'il atteint des valeurs faibles très rapidement, du moins indique-t-il pendant les premières semaines la tendance des agents cryoprotecteurs à ralentir plus ou moins la vitesse d'insolubilisation des protéines. Il faut souligner que 100 ml de solution de cryoprotecteur additionné par kg de pulpe change la concentration des protéines

./.

par rapport au témoin. Le niveau des cryoprotecteurs des échantillons est donc plus élevé que celui mesuré.

Le sorbitol seul ou les mélanges sorbitol-pyruvate sorbitol-pyrophosphate et le mélange ternaire ralentissent la vitesse d'insolubilisation des protéines.

Daprès le tableau 2, le sorbitol améliore également la capacité émulsifiante des protéines. Le pyruvate et les mélanges EDTA-pyrophosphate et EDTA-citrate maintiennent une capacité émulsifiante supérieure par rapport au témoin.

Le résultat obtenu pour le sorbitol n'est pas surprenant puisque le sorbitol ralentit l'insolubilisation des protéines dans la pulpe.

Les mélanges sorbitol-pyrophosphate, pyruvate-pyrophosphate et le mélange ternaire améliorent l'indice texturométrique de la pulpe (tableau 3).

En conclusion, les combinaisons de pyrophosphate ou de pyruvate avec du sorbitol semblent intéressantes et méritent d'être approfondies.

La pulpe récupérée à partir d'arêtes centrales contient en plus ou moins grande quantité de la rate et du rein où se trouve localisée une grande partie de l'enzyme responsable de la désintégration de l'oxyde de triméthylamine en formaldéhyde et en diméthylamine.

Pour la deuxième partie des essais on a préparé la pulpe à partir d'arêtes centrales après avoir éliminé la section de l'arête où se trouve le rein.

Sur la figure 2 l'indice des protéines dans la pulpe avec une certaine quantité de rein diminue beaucoup plus vite que dans les mêmes échantillons avec des cryoprotecteurs - surtout pour les échantillons avec 1 % du rein. Pour 5 % du rein la cryoprotection n'existe presque plus.

On obtient le même effet en utilisant la deuxième méthode celle de l'USTL (tableaux 4 à 6).

Les valeurs indiquent que ce sont surtout les protéines myofibrillaires qui sont touchées par la dénaturation.

Le tableau 7 montre les résultats d'indice texturométrique.

Après 6 semaines d'entreposage le témoin et la pulpe avec 1 % du rein ont le meilleur indice texturométrique.

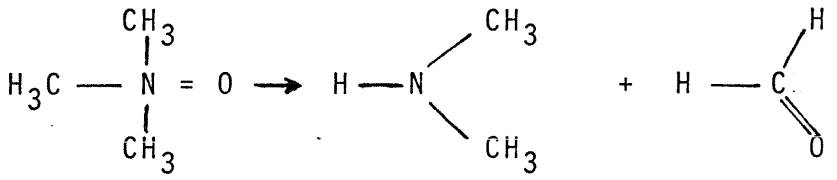
./.

Le fait d'ajouter les cryoprotecteurs en solution, c'est à dire 100 ml par kg de pulpe parait affecter la texture de la pulpe cuite. Des essais avec addition des cryoprotecteurs en poudre doivent être envisagés pour éviter l'influence de la présence d'eau.

Pour les échantillons avec 3 et 5 % du rein avec ou sans cryoprotecteurs l'indice texturométrique est plus faible avec néanmoins une valeur plus élevée pour les échantillons additionnés de cryoprotecteurs. Il semble donc que dans le cas de forts pourcentages de rein dans la pulpe les cryoprotecteurs aient une action positive sur la texture.

La quantité de diméthylamine (DMA) dans les échantillons avec du rein est toujours plus élevée que dans la pulpe additionnée de cryoprotecteurs (figure 3). On peut remarquer le même phénomène pour l'azote volatil total (ABVT) et triméthylamine (TMA) (fig.4, 5)

Pendant l'entreposage à l'état congelé il se forme à partir de l'oxyde de triméthylamine (TMA-O) surtout de la diméthylamine et le formaldéhyde :



La quantité de TMA-O dans la pulpe de cabillaud a diminué progressivement pendant l'entreposage (tableau 8).

Les résultats de mesure de la couleur sont regroupés dans le tableau 9. Les valeurs de x et y ne varient pas avec le temps d'entreposage et la présence ou l'absence de cryoprotecteurs. A partir de Y (figure 6) et selon la concentration en rein on peut voir, que plus le pourcentage de rein augmente, plus le produit est foncé.

En fonction de la durée d'entreposage il y a une très légère tendance à "l'assombrissement", surtout pour les faibles concentrations en rein. Les produits traités par les cryoprotecteurs sont très légèrement plus foncés que ceux non traités.

L'entreposage a le même effet sur les échantillons avec ou sans adjonction des cryoprotecteurs.

CONCLUSIONS.

Les substances utilisées : citrate, pyrophosphate, pyruvate, de même que leurs mélanges binaires ralentissent la vitesse d'insolubilisation des protéines dans les essais in vitro.

Dans la pulpe de poisson le sorbitol seul et le mélange sorbitol-pyrophosphate et sorbitol-pyruvate présentent un pouvoir de cryoprotection vis à vis de la dénaturation des protéines.

Cependant, contrairement à ce que l'on aurait pu attendre à partir des résultats in vitro, l'efficacité de cryoprotection est relativement faible.

Cette différence est vraisemblablement due à la formation importante de formaldéhyde dans la pulpe.

Dans les échantillons avec une certaine quantité de rein l'indice des protéines diminue beaucoup plus vite que dans les mêmes échantillons avec des cryoprotecteurs.

Il n'y a pas de cryoprotection pour un fort pourcentage de rein.

Le mélange de sorbitol et pyrophosphate retarde la production de diméthylamine donc de formaldéhyde pendant la durée de stockage à l'état congelé.

La durée d'entreposage n'a pas eu d'influence sur la couleur de la pulpe, dans les conditions utilisées.

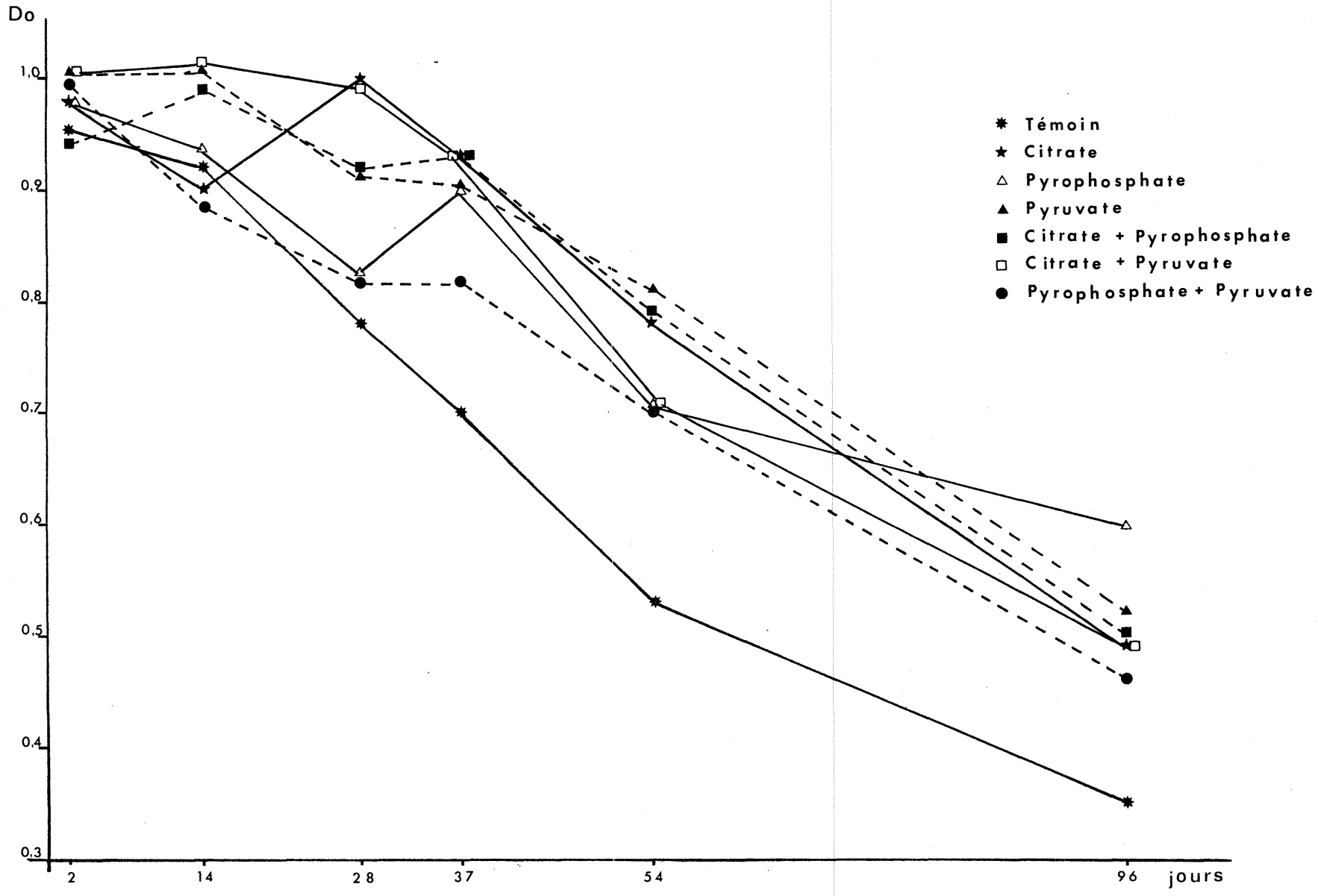


Fig. 1 Indice de solubilité de proteines de cabillaud dans les essais *in vitro*

Tableau 1.

Indice de solubilité des solutions de protéines de la pulpe de cabillaud additionnée de cryoprotecteurs et entreposée à - 18°C.

Additifs	Durée de l'entreposage (semaines)				
	1	2	3	4	5
Témoin	0,74	0,29	0,31	0,35	0,30
Hexametaphosphate	0,56	0,21	0,28	0,23	0,22
Sirop de glucose	0,95	0,22	0,26	0,23	0,23
Maltodextrine	0,68	0,36	0,24	0,22	0,23
Glutamate	0,53	0,33	0,34	0,22	0,21
Citrate	0,50	0,24	0,26	0,22	0,21
Témoin	0,46	0,27	0,29	0,27	0,34
EDTA	0,28	0,22	0,24	0,21	0,22
Pyrophosphate	0,28	0,26	0,23	0,25	0,25
Pyrophosphate + EDTA	0,31	0,30	0,24	0,23	0,22
Citrate + EDTA	0,30	0,31	0,24	0,20	0,23
Sorbitol + pyrophosphate	0,62	0,42	0,41	0,41	0,22
Sorbitol	0,50	0,37	0,28	0,28	0,21
Témoin	0,39	0,25	0,27	0,25	0,17
Pyruvate	0,34	0,24	0,22	0,28	0,21
Sorbitol + EDTA	0,26	0,28	0,24	0,24	0,22
Sorbitol + EDTA + Pyrophos.	0,32	0,30	0,25	0,22	0,15
Sorbitol + Pyruvate	0,44	0,49	0,38	0,30	0,25
Sorbitol + pyruvate + pyroph	0,55	0,45	0,32	0,29	0,25
Témoin	0,41	0,30	0,27	0,33	0,18
Pyruvate + EDTA	0,32	0,33	0,29	0,22	0,23
Pyruvate + Pyrophosphate	0,29	0,28	0,28	0,25	0,22
Sorbitol + pyruvate + EDTA	0,53	0,22	0,26	0,22	0,24

Tableau 2

Capacité émulsifiante de la pulpe de cabillaud additionnée de cryoprotecteurs et entreposée à - 18°C.

Additifs	Durée de l'entreposage (semaines)				
	1	2	3	4	5
Témoin	316	241	214	223	228
Hexamétaphosphate	241	232	220	181	229
Sirop de glucose	229	241	217	220	193
Maltodextrine	208	181	223	201	187
Glutamate	232	141	184	181	145
Citrate	223	181	199	219	184
Citrate + EDTA	235	193	211	201	235
Pyrophosphate + EDTA	241	223	228	187	163
Pyrophosphate	241	152	241	214	181
EDTA	235	169	230	173	172
Témoin	220	190	214	151	175
Sorbitol	241	223	214	172	187
Sorbitol + EDTA + pyrophos.	241	196	233	159	257
Pyruvate	247	232	214	172	166
Témoin	253	245	187	157	160
Sorbitol + EDTA	244	169	231	169	136
Sorbitol + Pyrophosphate	241	223	143	154	160
Pyruvate + EDTA	217	250	252	184	172
Sorbitol + pyruvate + pyroph	216	238	211	187	175
Sorbitol + Pyruvate	203	234	211	187	166
Témoin	232	220	169	187	166
Sorbitol + Pyruvate + EDTA	209	245	203	196	169
Pyruvate + Pyrophosphate	223	245	178	163	154

Tableau 3.

Indice texturométrique de la pulpe de cabillaud additionnée de cryoprotecteurs et entreposée à - 18°C.

Additifs	Durée de l'entreposage (semaines)				
	1	2	3	4	5
Témoin	384	273	278	211	172
Hexamétaphosphate	321	237	234	213	178
Sirop de glucose	309	183	260	189	155
Maltodextrine	452	279	239	197	134
Glutamate	246	213	266	158	149
Citrate	365	293	313	204	176
Témoin	425	354	309	298	226
EDTA	417	296	352	270	210
Pyrophosphate	447	322	470	269	220
Pyrophosphate + EDTA	368	327	333	238	242
Citrate + EDTA	317	426	388	248	230
Sorbitol + Pyrophosphate	286	290	221	215	189
Témoin	299	302	177	165	226
Pyruvate	246	266	168	162	128
Sorbitol	214	235	178	177	159
Sorbitol + EDTA	245	273	210	187	166
Sorbitol + EDTA + pyrophosph.	205	233	181	185	127
Sorbitol+Pyruvate+Pyrophos.	308	336	293	300	259
Pyruvate + Pyrophosphate	327	305	266	245	295
Sorbitol+Pyruvate+EDTA	324	372	294	267	243
Témoin	366	334	207	216	241
Sorbitol + Pyruvate	288	318	298	210	247
Pyruvate + EDTA	301	249	281	228	235

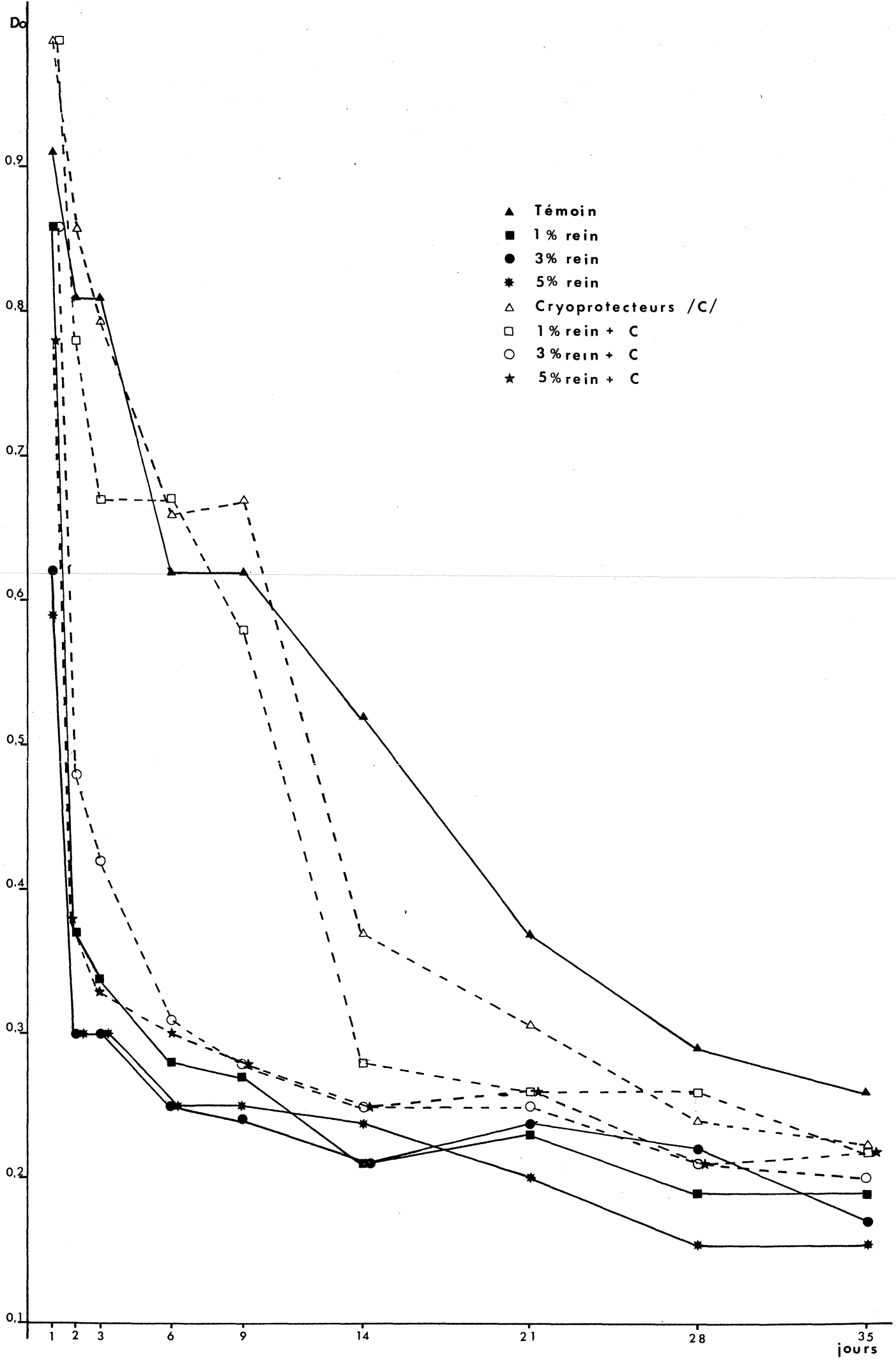


Fig.2 Indice de solubilité de proteines de la pulpe de cabillaud entreposée à -18°C
Influence de la présence de rein et de cryoprotecteurs.

Tableau 4

Indice de solubilité de la pulpe de cabillaud entreposée à - 18°C. Influence de la présence de rein et de cryoprotecteurs. Les résultats sont exprimés en gramme d'azote par 100 g de pulpe.

Additifs	Durée de l'entreposage (jours)								
	1	2	3	6	9	14	21	28	35
Témoin	4,41	3,92	3,89	2,99	2,98	2,49	1,76	1,34	1,19
1 % du rein	4,16	1,76	1,59	1,32	1,27	0,97	1,07	0;85	0;87
3 % du rein	2,98	1,41	1,41	1,17	1,12	0;97	1,12	1,02	0,75
5 % du rein	2,83	1,41	1,41	1,17	1,17	1,12	0,92	0,70	0,72
Sorbitol + Pyrophosphate (C)	4,79	4,15	3,78	3,14	3,19	1,72	1,40	1,08	1,03
1 % du rein + C	4,79	3,72	3,19	3,19	2,76	1,27	1,19	1,19	0,99
3 % du rein + C	4,15	2,28	1,99	1,43	1,30	1,16	1,14	0,95	0,91
5 % du rein + C	3,72	1,80	1,54	1,34	1,30	1,16	1,22	0,95	0,98

Tableau 5.

Indice de solubilité de protéines sarcoplasmiques de la pulpe de cabillaud entreposée à - 18°C.
Influence de la présence de rein et de cryoprotecteurs.
Les résultats sont exprimés en gramme d'azote par 100 g de pulpe.

Additifs	Durée de l'entreposage (jours)								
	1	2	3	6	9	14	21	28	35
Témoin	2,00	1,96	1,87	1,82	1,39	1,54	1,43	1,42	1,48
1 % du rein	1,94	1,72	1,48	1,48	1,48	1,39	1,42	1,23	1,37
3 % du rein	1,90	1,84	1,45	1,58	1,53	1,40	1,53	1,21	1,29
5 % du rein	1,79	1,92	1,67	1,60	1,67	1,46	1,48	1,25	1,27
Sorbitol + Pyrophosphate (C)	1,82	1,56	1,64	1,53	1,43	1,36	1,57	1,44	1,51
1 % du rein + C	1,90	1,80	1,53	1,52	1,57	1,56	1,74	1,51	1,66
3 % du rein + C	1,90	1,72	1,61	1,61	1,60	1,60	1,77	1,49	1,49
5 % du rein + C	1,97	1,84	1,72	1,85	1,72	1,68	1,80	1,39	1,58

Tableau 6

Indice de solubilité de protéines myofibrillaires de la pulpe de cabillaud entreposée à - 18°C. Influence de la présence de rein et de cryoprotecteurs. Les résultats sont exprimés en gramme d'azote par 100 grammes de pulpe.

Additifs	Durée de l'entreposage (jours)								
	1	2	3	6	9	14	21	28	35
Témoin	1,15	0,43	0,42	0,44	0,26	0,25	0,22	0,22	0,31
1 % du rein	0,48	0,24	0,19	0,16	0,16	0,16	0,15	0,15	0,15
3 % du rein	0,41	0,19	0,19	0,15	0,15	0,15	0,13	0,15	0,13
5 % du rein	0,48	0,20	0,22	0,17	0,16	0,16	0,16	0,15	0,13
Sorbitol + Pyrophosphate (C)	1,03	0,50	0,49	0,34	0,27	0,25	0,21	0,23	0,21
1 % du rein + C	0,96	0,44	0,40	0,28	0,23	0,21	0,20	0,20	0,19
3 % du rein + C	0,92	0,32	0,29	0,21	0,20	0,20	0,19	0,20	0,16
5 % du rein + C	0,77	0,25	0,27	0,17	0,17	0,19	0,18	0,20	0,17

Tableau 7

Indice texturométrique de la pulpe de cabillaud entreposée à - 18°C
Influence de la présence de rein et de cryoprotecteurs.

Additifs	Durée de l'entreposage (jours)					
	5	13	27	41	55	69
Témoin	311	431	485	245	362	318
1 % du rein	192	340	371	356	375	335
3 % du rein	212	301	455	253	150	158
5 % du rein	180	379	391	229	162	134
Sorbitol + Pyrophosphate (C)	262	301	420	/	217	278
1 % du rein + C	315	290	344	401	234	258
3 % du rein + C	226	301	480	440	164	204
5 % du rein + C	190	354	447	470	180	225

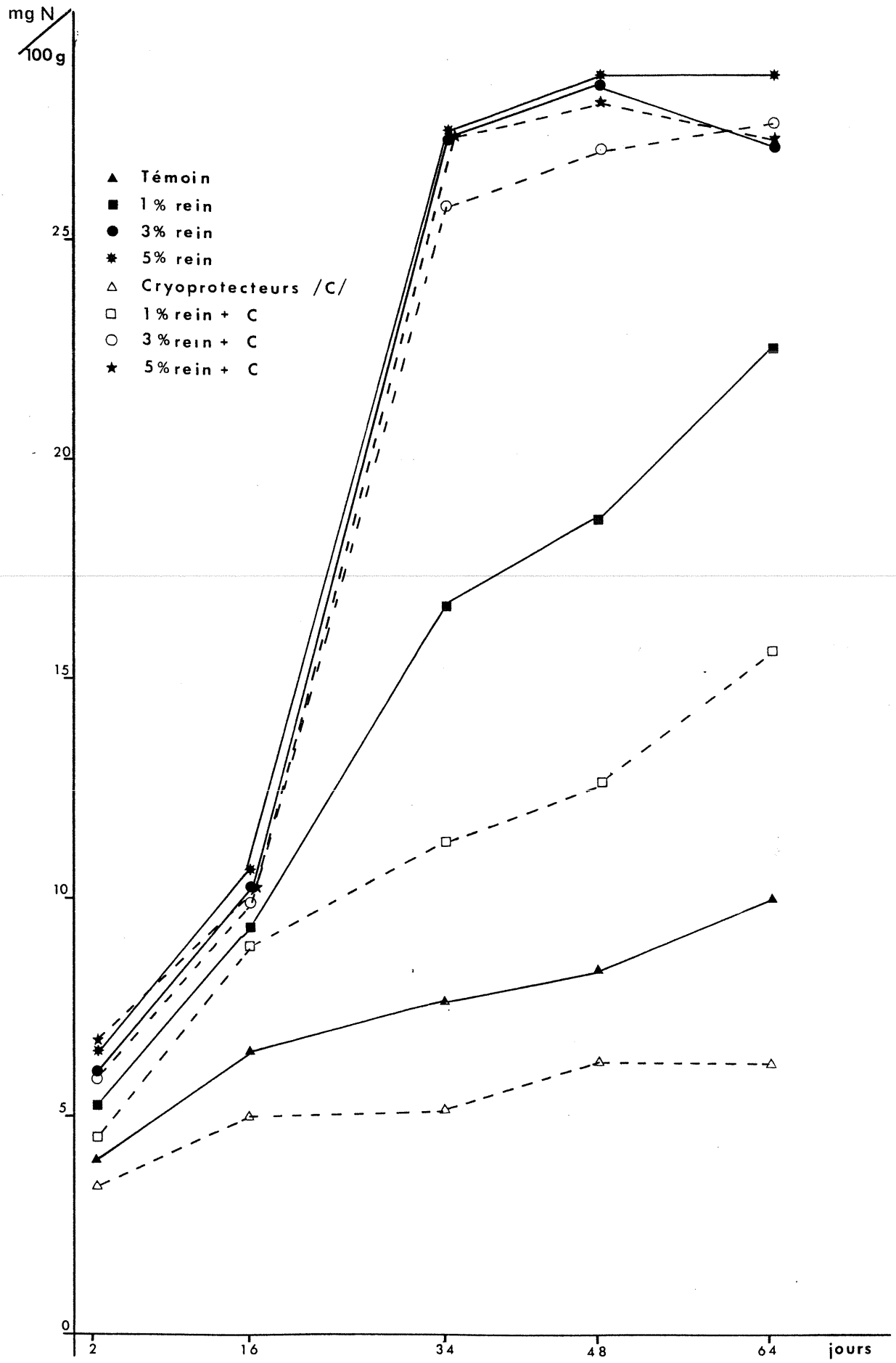


Fig.3 Quantité de DMA de la pulpe de cabillaud entreposée à -18°C
Influence de la présence de rein et de cryoprotecteurs.

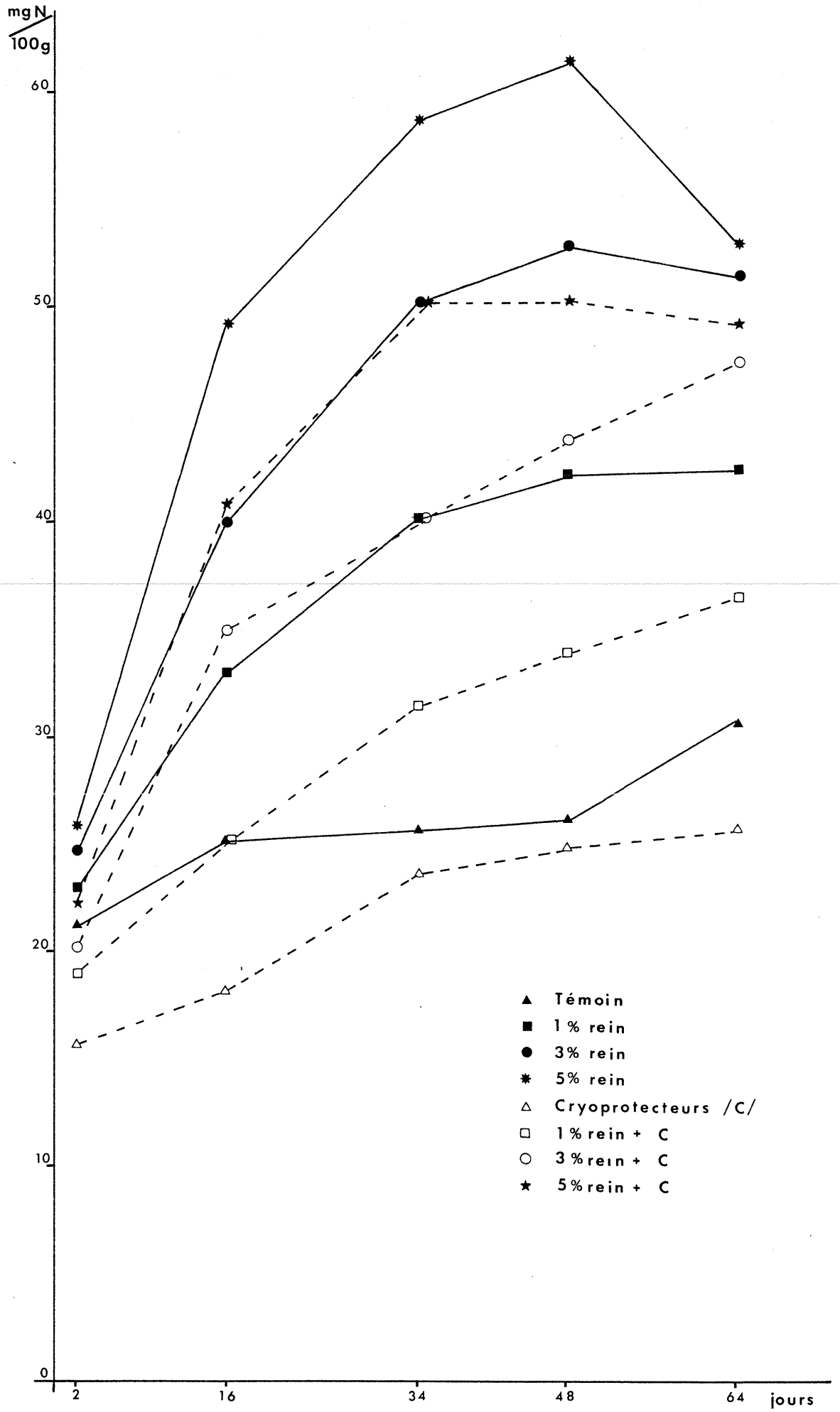


Fig. 4 Quantité de ABVT de la pulpe de cabillaud entreposée à -18°C
Influence de la présence de rein et de cryoprotecteurs.

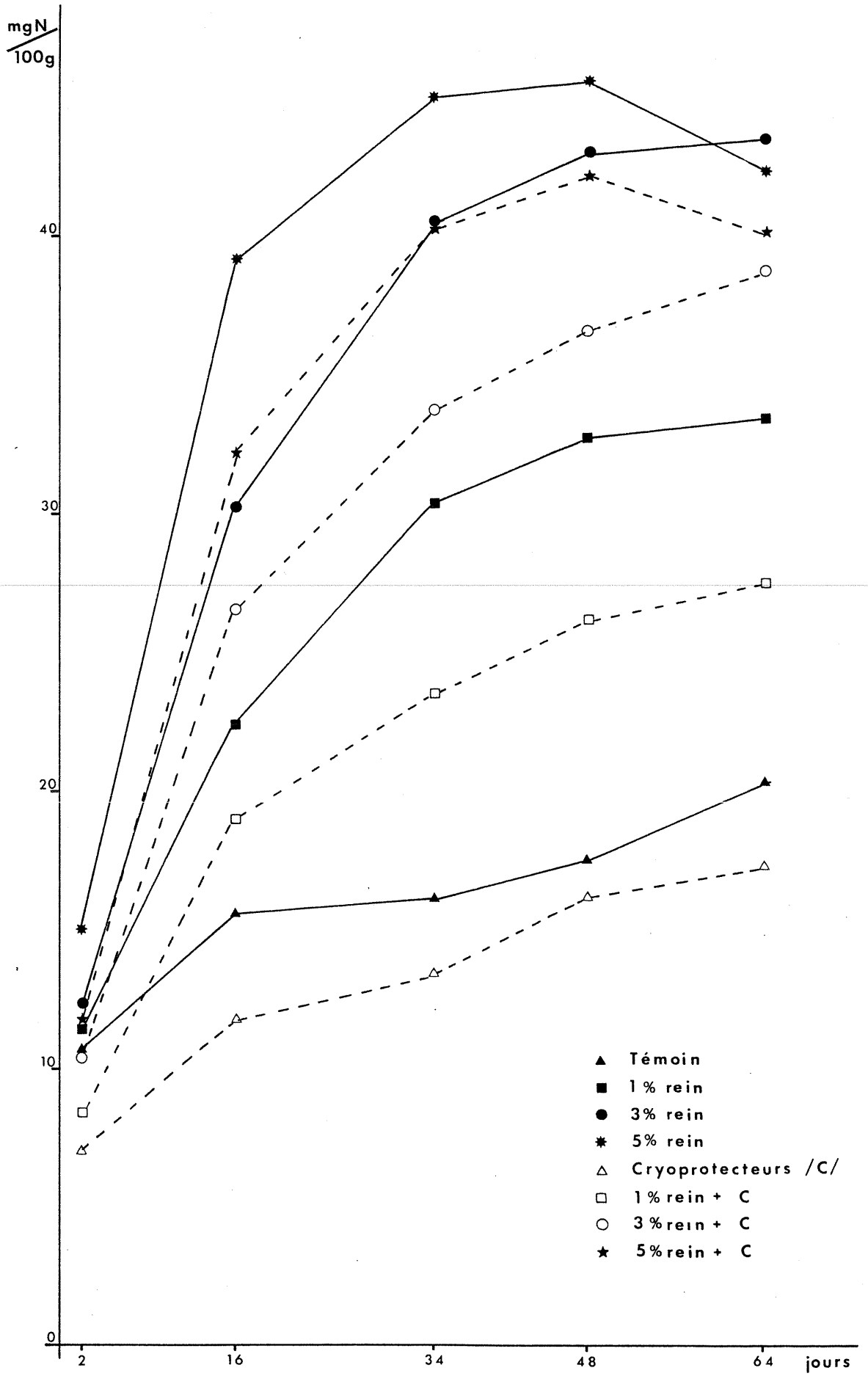


Fig.5 Quantité de TMA de la pulpe de cabillaud entreposée à -18°C
Influence de la présence de rein et de cryoprotecteurs.

Tableau 8

Quantité de TMA-O dans la pulpe de cabillaud entreposée à - 18°C
Influence de la présnece de rein et de cryoprotecteurs.

Additifs	Durée de l'entreposage				
	2	16	34	48	64
Témoin	35,23	37,47	47,25	46,97	37,47
1 % du rein	/	41,38	36,91	31,87	36,35
3 % du rein	/	40,82	30,48	36,91	33,55
5 % du rein	/	40,82	40,82	34,67	36,35
Sorbitol + Pyrophosphate (C)	/	41,66	36,07	40,26	40,26
1 % du rein + C	/	37,75	37,75	40,26	36,35
3 % du rein + C	/	35,23	31,11	32,99	25,16
5 % du rein + C	/	30,76	29,08	31,32	12,30

Tableau 9

Résultats obtenus par mesure de la couleur de la pulpe de cabillaud entreposée à - 18°C.

Additifs	Durée de l'entreposage					
	8 semaines			13 semaines		
	x	y	Y	x	y	Y
Témoin	0,34	0,35	0,22	0,33	0,35	0,21
1 % du rein	0,35	0,35	0,19	0,37	0,35	0,16
3 % du rein	0,37	0,35	0,16	0,37	0,35	0,15
5 % du rein	0,39	0,36	0,13	0,39	0,36	0,13
Sorbitol + pyrophosphate (C.)	0,34	0,36	0,18	0,33	0,35	0,16
1 % du rein + C	0,35	0,35	0,17	0,36	0,36	0,15
3 % du rein + C	0,36	0,36	0,14	0,36	0,36	0,13
5 % du rein + C	0,38	0,35	0,12	0,39	0,35	0,11

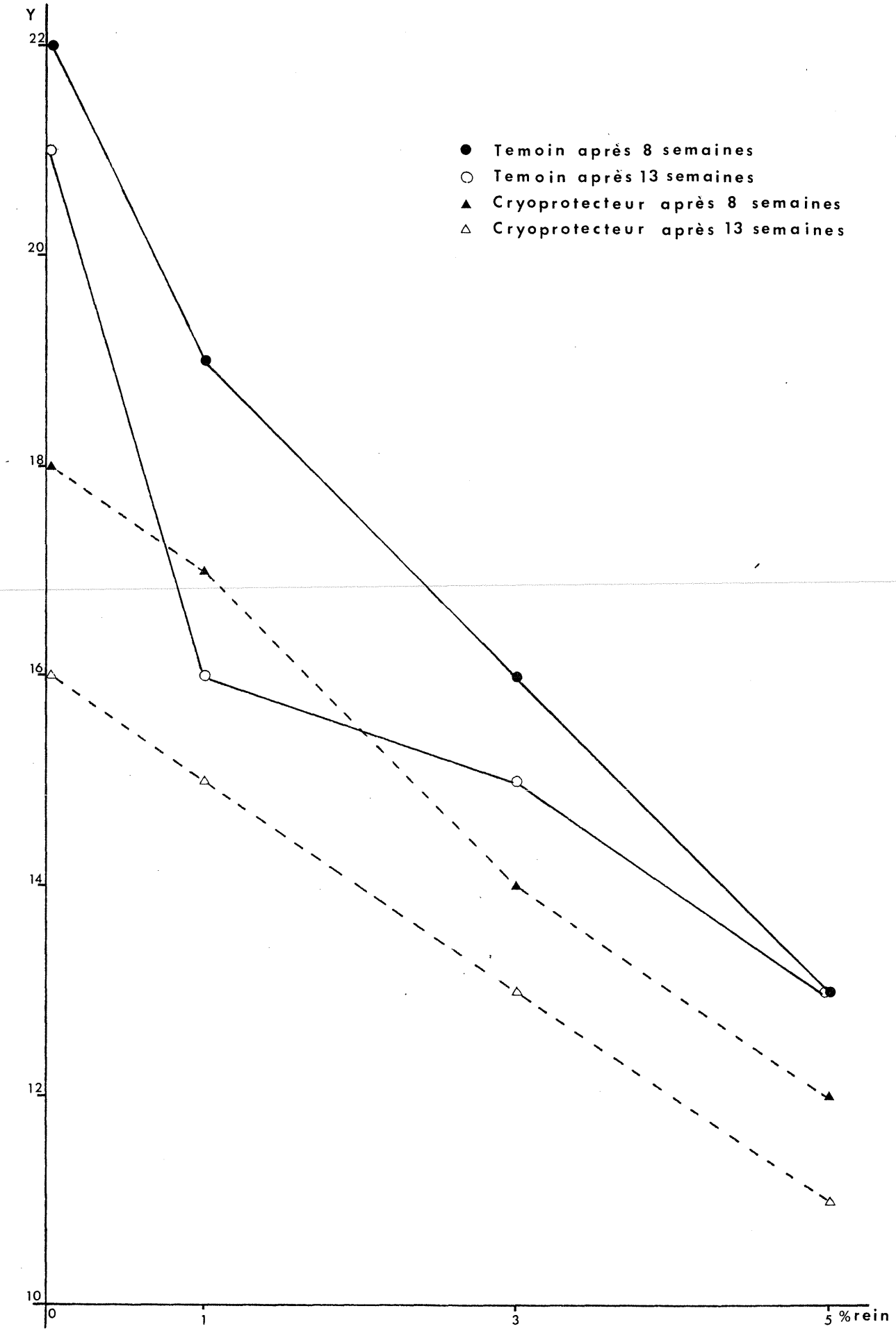


Fig.6 Mesure de la couleur dans la pulpe de cabillaud entreposée à -18°C

BIBLIOGRAPHIE.

AMANO K., YAMADA K., 1964.- "The biological formation of formaldéhyde in cod flesh". The Technology of Fish Utilization, FAO International Symposium.

AMANO K., YAMADA K., 1964.- "A biological formation of formaldehyde in the muscle tissue of gadoid fish". Bull. of Jap. Soc. of Sci. Fish. Vol. 30, 430 - 435.

CASTELL C.H., SMITH B., DYER W.J., 1973.- "Effects of formaldehyde on salt extractable proteins of gadoid muscle". J. Fish. Res. Bd. Can. Vol.30 1205 - 1213.

DENG J.C., TOMASZEWSKI F.B., 1979.- "Advances in fish science and technology" Fishing News Books.

DYER W.J., 1951.- "Proteins denaturation in frozen and stored fish". Food Res. Vol. 16. 522 - 527.

DYER W.J., 1952.- "Amines in fish muscle. VI Trimethylamine oxide content of fish and marine vertebrates". J. Fish. Res. Bd. Can. Vol. 8 314 - 324.

DYER W.J., 1974.- "Stability of minced fish an importent factor in standards formulation." Second Technical Seminar on Mechanical Recovery and Utilization of fish flesh, Boston - Massachussetts.

DYER W.J., MOUNSEY Y.A., 1945.- Annals in fish muscle : "Development of TMA another amine". J. of the Fish Res. Bd. Can. Vol. 6. 359 - 367.

DYER W.J. and HILTZ D.F., 1974.- Sensivity of hake muscle to frozen storage. Halifax Lab., Fish. Mar. Serv. New. Serv. Circ. Vol. 45, 4 pp.

GRABOWSKA J., SIKORSKI Z., 1974.- The emulsifying capacity of fish proteins. Proc. IV. Int Congress Fd. Sci. and Tech. Vol. II, 13 - 17.

HARADA K., YAMADA K., 1974.- Distribution of trimethylamine oxide in fishes and other aquatic animals.V. Teleost and elasmobranchs. J. Shimonoseki Univ. Fish., Vol. 22, 77 - 94.

HILTZ D.F. et al.- 1976.- Deteriorative changes during frozen storage in fillets and minced flesh of silver hake (Merluccius bilinearis) processed from rou nd fish held in ice and refrigerated sea water J. Fish. Bd. Can. Vol. 33, 2560 - 2567.

KOLAKOWSKI E., 1984.- Technologia mrozonych przetworow rybnych. Biblioteka Przmyslu Rynego.

LOVE R.M., ELERIAN M.K., 1965.- Protein denaturation in frozen fish. IX. The inhibitory effect of glycerol in cod muscle. J. Sci. Food Agric. Vol. 16 65 - 70.

NECIBI M., 1981.- Mémoire de fin d'étude de spécialisation halieutique. INA Tunis et ISTPM.

./.

NOGUCHI S., MATSUMOTO J., 1975.- Studies on the control of denaturation of fish muscle proteins during frozen storage. III.- Preventive effect of some amino-acids, peptides, acetylamino-acids and sulfur compounds. Bull. of the Jap. Soc. Of Sci. Fish. Vol. 41. 243 - 249

NOWLAN S.S., DYER W.J., 1974.-Effect of mincing on glycolitic activity in prerigor atlantic cod (Gadus morhua) muscle stored in ice or frozen. J. Fish. Res. Bd. Can. Vol. 31. 473 - 476.

Rapport sur le Commerce extérieur des produits de la Pêche en 1982. Comité Central des Pêches Maritimes, spet. 1983.

SIKORSKI Z.E., 1971.- Technologia Zywnosci Pochodzenia Morskiego. Wydawnictwo Naukowo - Techniczne - Warszawa.

SVENSSON S., 1979.- Stabilization of fish mince from gadoid species by pretreatment of the fish. In Adv. in Fish. Sci. and Techn. Aberdeen.

SWIFT C., LOCKETT C., FRYAN A., 1961.- Comminuted meat emulsions. The capacity of meats for emulsifying fat. Food Technology Vol. 15 468 - 473.

TOKUNAGA T., 1970.- Trimethylamine oxide and its decomposition in the bloody muscle of fish. I. TMA-O, TMA, DMA contents in ordinary and bloody muscles. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. Vol; 36, 502 - 509.

TRAN V., 1974.- L'effet préventif de l'acide pyruvique et d'autres acides cétoniques sur la dénaturation des protéines dans le poisson congelé. Can. Inst. Food. Sci. Techn. Vol. 7, 203 - 207.

TRAN V., 1975.- A research note : effect of sodium pyruvate on the texture of frozen stored cod fillets. J. of Food Sci. Vol. 40, 888 - 889.

TRAN V., HAN-CHING L., 1981.- Essais préliminaires des cryoprotecteurs dans les pulpes de poisson. ISTPM Nantes.

VERREZ V., 1984.- Essai de certaines combinaisons de cryoprotecteurs additionnées à la pulpe de cabillaud congelé, après récupération mécanique à partir des chutes de filetage. Diplôme d'études approfondies à l'USTL.

WEBB N., et al., 1970.- The measurement of emulsifying capacity by electrical resistance. J. of Id. Sci. Vol. 35. 501.

YAMADA K. et al, 1969.- Biological formation of formaldéhyde and dimethylamine in fish and shellfish. VIII Requirement of cofactor in the enzyme system. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. Vol. 35. 227 - 321.